ATLAS DE POCHE DE
MICROBIOLOGIE

TONY HART – PAUL SHEARS



Médecine-Sciences
Flammarion

La réussite d'un pari pédagogique : cet atlas de poche couvre en 320 pages et 500 photos, tout ce qu'un étudiant doit savoir en microbiologie.

Il explique clairement tout ce qu'il faut comprendre sur les agents pathogènes pour l'homme et les moyens d'identifier les bactéries, virus, champignons et parasites qu'il convient de connaître en médecine humaine.

Les chapitres sont toujours rédigés de façon stéréotypée : description des principales caractéristiques du germe étudié, exposé des principales affections causées par le germe, et des méthodes diagnostiques.

Cet atlas concis et exhaustif, paraît ainsi particulièrement attrayant par :

- son format,
- ses 500 illustrations, dont 400 en couleurs,
- la richesse et la clarté des tableaux exposant de façon synthétique l'essentiel de ce qu'il faut savoir sur un germe et les affections dont il est responsable,
- l'exposé des méthodes modernes de diagnostic et de toutes les colorations utilisées,

qui font de ce livre un outil précieux et efficace pour la préparation et la révision des examens.

Cet ouvrage s'adresse principalement aux étudiants en médecine et en biologie, mais il intéressera également les médecins et les biologistes soucieux d'actualiser leurs connaissances en microbiologie moderne.

FM 0125-99-X





Atlas de poche de microbiologiel

Tony Hart
Professeur, Département de Microbiologi
Université de Liverpool, Royaume-Uni

Paul Shears
Maître de conférence. Département de Microbiologie médicale
Université de **Liverpool,** et
École de Médecine tropicale de Liverpool, Royaume-Uni

Traduit de l'anglais par

Olivier Gaillot
Biologiste, Assistant Hospitalier Universitaire
Laboratoire de Microbiologie
Faculté de Médecine Necker-Enfants Malades, **Paris**

Médecine-Sciences
Flammarion

4, rue Casimir-Delavig**ne,** 75006 **PARIS**

Chez le même éditeur

Dans la même collection :

Atlas de poche d'anatomie (3 volumes), W. **Kahie, H. Leonhardt, W. Platzer.**
Atlas de poche d'anatomie en coupes **sériées TDM-1RM (2 volumes), T.B. Môlier, E. Rief.**
Atlas de poche de biochimie, J. Koolman, **K.-H. Rôhm.**
Atlas de poche d'embryologie, U. Drews.
Atlas de poche de génétique, E. Passarge.
Atlas de poche d'histologie, W. Kûhnel.
Atlas de poche de pharmacologie, H. Lûllmann, K. Mohr, A. **Ziegler.**
Atlas de poche de physiologie, S. Silbernagl, A. Despopoulos.
Atlas de poche de pathologie infectieuse, N.J. Beeching, F.J. Nye.
Atlas de poche des méthodes d'analyse, G. Schwedt.

Dans d'autres collections :

Bactériologie.médicale, L. Le Minor, M. Véron.
Bactériologie, P. Berche, J.L. Gaillard, M. Simonet
Virologie médicale, J. Mauvin.
Virologie, J.M. Huraux, J.C. Nicolas, H. Agut.
Aide-mémoire de parasitologie et de pathologie **tropicale, P. Bourée.**
Nouvelles techniques en parasitologie, Y.J. Golvan, P. Ambroise-Thomas.
Les parasitoses humaines d'origine animale, J. Euzeby.
Médecine tropicale, M. Gentilini.
Médicaments anti-infectieux, C. Carbon, B. Régnier, A.G. **Saimot, J.L. Vildé, P. Yeni.**
Le livre de l'interne : la pathologie infectieuse, C. Carbon.
La petite encyclopédie Hamburger, M. Leporrier.
Traité de médecine, P. Godeau, S. Herson, J.C. Piette.
Médico, sous la direction de L. Guillevin.

I'" édition, 1997.
2e tirage, 1999.

Cet ouvrage a été publié en anglais sous le titre : Color Atlas of Médical Microblology

Published by Mosby-Wolfe

Pour recevoir le catalogue Flammarion Médecine-Sciences,
il suffit d'envoyer vos nom et adresse à

Flammarion **Médecine-Sciences**
4, rue Casimir-Delavigne
75006 PARIS

ISBN : 2-257-10125-1

Printed in France.

Sommaire

Préface

La microbiologie médicale est l'étude des micro-organismes pathogènes pour l'homme. Elle a pour principal objectif le diagnostic spécifique des infections, mais embrasse également l'épidémiologie, la pathogenèse, le traitement et la prévention des maladies infectieuses. Bien que l'incidence des maladies microbiennes ne soit pas très élevée dans les pays développés, les épidémies d'infections restent encore inquiétantes. Dans les pays en voie de développement, les maladies microbiennes font un grand nombre de victimes, en terme de morbidité comme de mortalité. Chaque année surviennent, dans le monde, 3 à 5 milliards d'épisodes de diarrhée infectieuse (causés par une trentaine d'agents pathogènes possibles), qui provoquent 5 à 10 millions de décès (principalement des enfants). Cependant, même les diarrhées infectieuses deviennent insignifiantes en comparaison des 12 millions de morts causées chaque année par les infections aiguës de l'arbre respiratoire. Des infections comme la poliomyélite, la coqueluche et la typhoïde (qui ont été à peu près éradiquées dans les pays développés) ont encore une forte incidence globale. On estime à 10 milliards le nombre d'infections par le Poliovirus chaque année, occasionnant 10 millions de cas de poliomyélite, et dix mille décès par an. La tuberculose était qualifiée de « capitaine des soldats de la mort » dans l'Europe du dix-neuvième siècle, période au cours de laquelle elle était responsable d'un taux annuel de 500 morts pour 100 000 habitants. Avec les progrès de l'alimentation et des conditions sociales, de la chimiothérapie et de la vaccination, l'incidence de la tuberculose a considérablement décru, Dans les années 60 et 70 par exemple, elle diminuait de 5 à 10 % chaque année. Malheureusement, un plateau a été atteint dans les pays développés avec un taux de 10 pour 100 000 habitants, et une recrudescence a été observée entre 1985 et 1992 avec, par exemple, une augmentation de 20 % de l'incidence aux États-Unis.

En plus de la résurgence d' « anciens » germes infectieux, comme *Mycobacterium tuberculosis*, on assiste à l'identification, voire à l'émergence de « nouveaux » agents pathogènes, allant de pair avec la mise au point de nouvelles technologies, les modifications des modes de vie, et les progrès dans le domaine de la survie médicalement assistée. Nous estimons qu'au cours des deux dernières décennies, deux à trois « nouveaux » pathogènes ont été décrits chaque année. Parmi eux, des virus comme celui de Muerto Canyon (responsable du syndrome pulmonaire à Hantavirus), le virus de l'immunodéncience humaine (responsable du SIDA), ou les Astrovirus (responsables de diarrhées), des bactéries comme *Bartonella henselae* (responsable de la maladie des griffes du chat), *Legionella pneumophila* (responsable de la maladie du légionnaire) et *Tropheryma whippelii* (responsable de la maladie de Whipple), des parasites comme *Cryptosporidium parvum* et *Cyclospora cayetanensis* (tous deux responsables de diarrhées), et *Strongyloides fullebornii* (responsable de décès chez des nouveau-nés en Papouasie-Nouvelle Guinée).

On a longtemps espéré qu'avec l'avènement de l'ère des antibiotiques (voire des antiviraux), on disposerait d'armes miraculeuses pour traiter la plupart des infections. Bien qu'initialement ces espoirs aient été concrétisés, des bactéries résistantes à de nombreux

antibiotiques sont apparues récemment (les « super-microbes »). Citons par exemple certaines souches de *Salmonella typhi* (agent de la typhoïde), résistantes à tous les antibiotiques de première intention (cotrimoxazole, ampicilline, chloramphénicol, tétracycline et ciprofloxacine). La plupart des gènes responsables de la résistance sont portés par des plasmides (ADN circulaire extra-chromosomique), qui peuvent facilement être transférés entre espèces ou genres bactériens. À l'heure actuelle, l'émergence des résistances est à peine en retard sur la production de nouveaux antibiotiques. Ceci est en partie dû au mauvais usage de ces derniers, et en partie à la capacité infinie des bactéries à muter sous la pression des antibiotiques, ainsi qu'à leur vitesse de réplication (dans des conditions optimales, certaines multiplient leur nombre par deux toutes les vingt minutes).

Enfin, les nouvelles technologies permettent de mieux comprendre comment les micro-organismes causent les maladies, aident à diagnostiquer les infections, et même à définir de « nouveaux » agents pathogènes. Ainsi, bien que le virus de l'hépatite C n'ait pu jusqu'à présent être cultivé artificiellement, la combinaison de techniques de clonage, d'insertion dans des vecteurs, d'amplification par PCR et d'expression du génome viral, ont conduit à la mise au point d'outils de diagnostic et de typage.

Lobjectif de cet atlas est de fournir un cadre permettant de comprendre les agents pathogènes (prions, virus, bactéries, champignons, protozoaires et parasites pluricellulaires) qui infectent l'homme. Leurs caractéristiques, les infections qui leur sont associées et leur diagnostic spécifique sont décrits en images, tableaux et arbres décisionnels. Nous espérons réussir à transmettre à nos lecteurs une partie au moins de notre enthousiasme pour ces questions.

ÇA. Hart, P. Shears, avril 1996

Remerciements

Nous exprimons notre gratitude à Mlle Carol Boulin pour la dactylograhie du manuscrit, à M. Brian Getty pour la photographie et la microscopie électronique, à Mme Norma Lowe pour les cultures bactériennes et la microphotographie, et à M. John McKeown pour les cultures fongiques. Nous remercions également les membres du Département **de** Microbiologie Médicale pour leur aide et leur bonne volonté.

Les collègues suivants ont aimablement contribué à l'iconographie.

Dr R. Ashford
Dr W. Bailey
M. B. Baker
Dr G. Barnish
Dr D. Baxby
Dr A. Carty
Dr A. Caunt
M. J. Corkill
Dr D. Dance
Br J. Fletcher
Dr C. Gilks
M. M. Guy
Mme L. Hindie
M. K.Jones
Prof. D. Kelly
Dr S. Lewis-Jones
Prof. K. McCarthy
Dr I. McDicken
Dr T. Makin
Dr I. Marshall
Dr J. Midgely
Dr R. Nevin
Dr J. Pennington
Prof. A. Percival
Prof. T. Rogers
Dr G. Sharpe
Dr D. Smith
Dr D. Theakstone
Dr W. Tong
Prof. H. Townson
Prof. S. Trees
Dr C. Valentine
Dr J. Varley
Dr C. Wray

À Jenny et Anne

1. Introduction

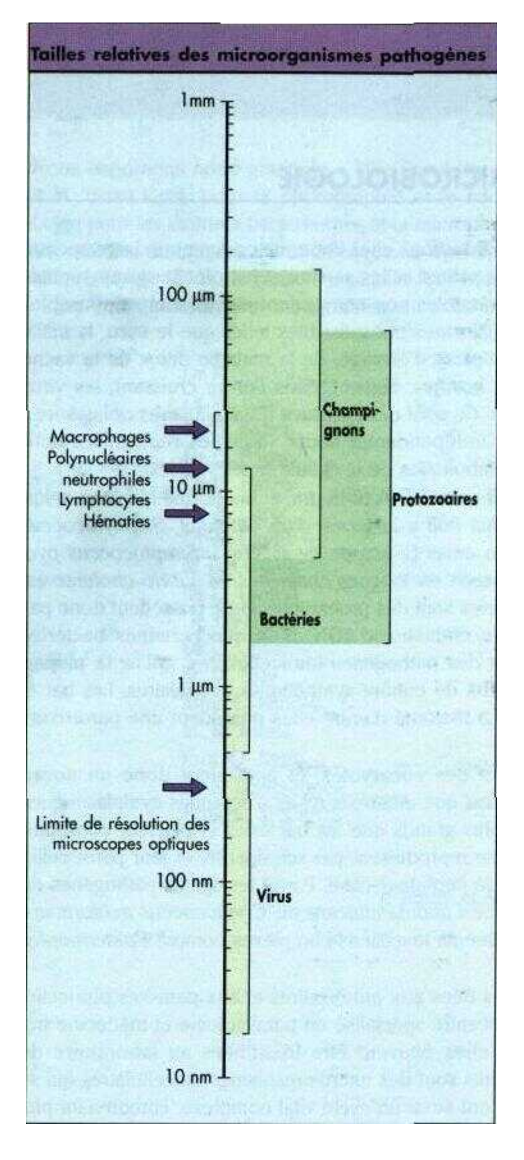
LES DOMAINES DE LA MICROBIOLOGIE

Les agents pathogènes responsables d'infections chez l'homme couvrent un large spectre (1). À l'extrémité de l'échelle des plus petites tailles se situent les protéines auto-réplicatives appelées prions ou agents transmissibles non conventionnels. Ils sont responsables des encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles telles que le kuru, la maladie de Creutzfeldt-Jakob, et, chez les bovins d'élevage, de la maladie dite « de la vache folle » (encéphalopathie spongiforme bovine). Suivent, dans l'ordre croissant, les virus dont le diamètre varie de 20 à 400 nm. Ce sont des parasites intracellulaires obligatoires, incapables de mener une existence indépendante. Leurs stratégies réplicatives sont variées, utilisant toujours les voies métaboliques de la cellule hôte.

Les bactéries ont une taille comprise entre 0,5 et 10-15 |im, et une forme qui varie selon le genre. À titre d'exemple, *Escherichia coli* a la forme d'un bâtonnet, *Staphylococcus aureus* est sphérique et s'assemble en amas (« grappe de raisin 11). *Streptococcus pyogenes* est également sphérique, mais croît en longues chaînettes, et *Vibrio cholerae* est incurvé en forme de virgule. Les bactéries sont des procaryotes et ne possèdent donc pas de noyau, mais un seul chromosome circulaire d'ADN. Bien que certaines bactéries comme *Chiamydia trachomatis* soient des pathogènes intracellulaires stricts, la plupart sont capables de croître sur des milieux de culture synthétiques acellulaires. Les bactéries se reproduisent par scissiparité. La majorité d'entre elles possèdent une paroi composée de peptidoglycane.

Les champignons ou mycètes sont des eucaryotes, et possèdent donc un noyau entouré d'une membrane nucléaire, ainsi que différents types d'organites cytoplasmiques limités par des membranes. Ils sont plus grands que les bactéries et peuvent constituer des assemblages de grande taille. Ils se reproduisent par scissiparité, et leur paroi cellulaire est constituée de chitine et non de peptidoglycane. Parmi les agents pathogènes de ce règne, on trouve des levures comme *Candida albicans* ou *Cryptococcus neolormans,* et des dermatophytes formant des filaments mycéliens complexes comme *Epidermophyton floccosum.*

Le diagnostic de certaines infections dues aux protozoaires et aux parasites pluricellulaires peut nécessiter l'expertise d'un centre spécialisé en parasitologie et médecine tropicale. Cependant, nombre d'entre elles peuvent être identifiées au laboratoire de microbiologie médicale. Les protozoaires sont des micro-organismes unicellulaires qui se reproduisent par scissiparité mais qui ont aussi un cycle vital complexe, comprenant plusieurs étapes et une reproduction sexuée. Leur taille varie de 5 à 30 µm. On rencontre par exemple *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium parvum* et *Giardia intestinalis,* qui sont responsables de diarrhées, *Trichomonas vaginalis,* pathogène sexuellement transmissible, ou encore *Plasmodium falciparum,* agent du paludisme. Les helminthes sont des para-



1 Tailles relatives des micro-organismes pathogènes.
L'échelle est logarithmique, allant de 10 nm à 1 mm (10^6 nm). A droite de l'échelle se trouvent les gammes de taille des virus, bactéries, champignons et protozoaires. Les plus petits des helminthes sont tout juste trop grands pour y figurer (Enterobi'us *vermicularis :* diamètre 0,2 mm, longueur 2 à 5 mm). À gauche de l'échelle se trouvent les tailles de quelques cellules participant à l'immunité anti-infectieuse. Le microscope optique ne peut séparer des objets d'une taille inférieure à 300 nm; la limite de résolution du microscope électronique est d'environ 0,5 nm.

sites pluricellulaires dont la taille est comprise entre 5 mm et 3 mètres. Certains (comme le ver solitaire, *Taenia saginata)* produisent des infections asymptomatiques; d'autres (comme les oxyures, *Enterobius vermicularis)* sont simplement irritants, alors que les anguillules *(Strongyloides stercoralis)* peuvent être à l'origine d'un syndrome infectieux fatal.

QU'APPELLE-T-ON FLORE NORMALE ?

Les virus, bactéries et champignons sont souvent considérés comme des micro-organismes agressifs et invasifs pour le corps humain, ce qui n'est cependant pas l'exact reflet de la réalité. En fait, le corps humain est normalement colonisé par un grand nombre de germes qui constituent la « flore normale ». Il a été estimé qu'un individu adulte, homme ou femme, n'était qu'à 10 % humain. Il y a en effet 10^{14} cellules chez un homme adulte, dont seules 10^{13} sont humaines. Les 9 x 10^{13} cellules restantes sont des bactéries, des champignons, des protozoaires ou appartiennent à des arthropodes de la flore normale. De plus, certains virus peuvent infecter l'homme de façon persistante, et sont excrétés tout au long de la vie. Parmi eux, on trouve des Herpèsvirus comme le Cytomégalovirus, le virus Epstein-Barr, l'Herpèsvirus 6, de même que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Leur place au sein de la flore normale est controversée.

In utero, le fœtus reste microbiologiquement stérile. Le premier contact avec des micro-organismes a lieu à la naissance lors du passage de la filière maternelle, puis lors de l'alimentation par le contact maternel. L'installation d'une flore normale et stable prend environ 2 à 3 semaines pour les enfants nés à terme et nourris au sein. Le processus est plus lent pour les prématurés et les enfants nourris au biberon, chez lesquels peut se produire une colonisation par une flore anormale.

La flore normale n'est pas répartie uniformément et certains sites sont normalement stériles (2). À leur niveau, la mise en évidence d'un micro-organisme signe une infection. Les bactéries constituent la plus grande part de la flore normale, et les bactéries anaérobies prédominent dans la plupart des sites. Des bactéries potentiellement pathogènes peuvent aussi faire partie de la flore normale. Par exemple, *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae* et *Neisseria meningitidis,* qui peuvent être à l'origine de méningites bactériennes, colonisent la gorge de nombreux individus. L'infection survient quand ces micro-organismes accèdent à des sites normalement stériles.

Les champignons sont moins fréquemment rencontrés, par exemple *Pityrosporon (Malassezia) ovale* sur la peau et *Candida albicans* dans la bouche et le vagin. Des protozoaires comme *Entamoeba coli* et *Endolimax nana,* parfois même certaines souches de *E. histolytica,* peuvent être retrouvés dans l'intestin en l'absence de maladie. L'infection due aux cestodes *Taenia solium, T. saginata* ou *Trichuria trichiuris* est rarement symptomatique. L'arthropode *Demodex follicularum,* comme son nom l'indique, se rencontre dans les follicules pileux et les glandes sébacées du visage.

Flore microbienne normale de l'homme		
Zones normalement colonisées		**Zones normalement stériles**
Densité de la colonisation	**Micro-organismes prédominants**	
Peau : de 10/cm² sur les mains à 10⁵/cm² au niveau de la figure et du périnée	*S. epidermidis*, *S. aureus*, peptocoques, champignons tels que *Pityrosporon (Malassezia) ovale*	**Arbre respiratoire** (sous les cordes vocales)
Naso-pharynx : jusqu'à 10⁹/ml, selon le site	Les anaérobies surpassent nettement les aérobies (1000:1) 20 à 40 % des individus sont porteurs de *S. pneumoniae*, 40 à 80 % de *H. influenzae*, 10 à 20 % de *S. aureus* 5 à 20 % de *N. meningitidis* et 5 à 10 % de *S. pyogenes*	**Sinus et oreille moyenne**
Œsophage et estomac : 10² à 10³/ml	Colonisation transitoire par le bol alimentaire. Certains adultes sont porteurs asymptomatiques de *Helicobacter pylori* dans l'estomac	**Plèvre et péritoine**
Intestin grêle : 10² à 10³/ml	Colonisation transitoire, mais présence possible de quelques lactobacilles	**Foie et vésicule biliaire**
Gros intestin : 10¹⁰ à 10¹²/ml	Anaérobies prédominants ex. *Eubacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* et *Veillonella*. *E. coli* (10⁷/ml) est le plus commun des bacilles à Gram négatif aérobies	**Arbre urinaire au-dessus de l'urètre antérieur**
Vagin : 10⁸/ml	Prédominance d'anaérobies et de lactobacilles. Peut aussi contenir des germes de la flore fécale	**Os, articulations, muscles, sang**
Urètre antérieur (2,5 cm) : 10²/cm²	*S. epidermidis*, lactobacilles, anaérobies, *E. coli*	**Liquide céphalorachidien**

2 La flore microbienne normale de l'homme.

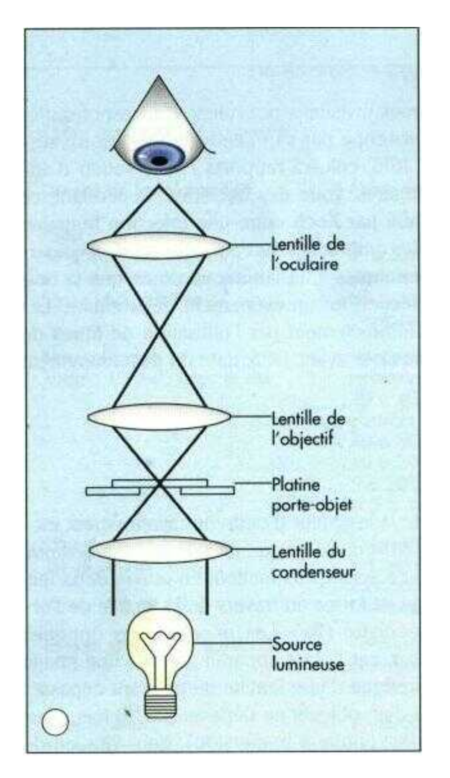
VOIR LES MICROBES

Dès 1546, Fracastoro suggéra que des organismes invisibles pouvaient être responsables des infections, mais jusqu'à l'invention du microscope par van Leeuwenhoek au dix-septième siècle, il fut impossible de les voir. En 1676, celui-ci rapporta l'observation d'animalcules, qui étaient probablement des protozoaires, voire des bactéries. Cependant, ce ne fut qu'en 1876 qu'un lien direct put être établi par Koch entre une infection humaine (la maladie du charbon) et une bactérie *(Bacillus anthracis).* Au cours des années qui suivirent, la microbiologie se développa rapidement, mais il ne fait aucun doute que la possibilité de voir les bactéries responsables d'infection fut un événement déterminant. Les virus furent détectés et leur taille déterminée indirectement par l'utilisation de filtres de faible porosité, mais il fut impossible de les visualiser avant 1933, date du développement par Ruska du microscope électronique.

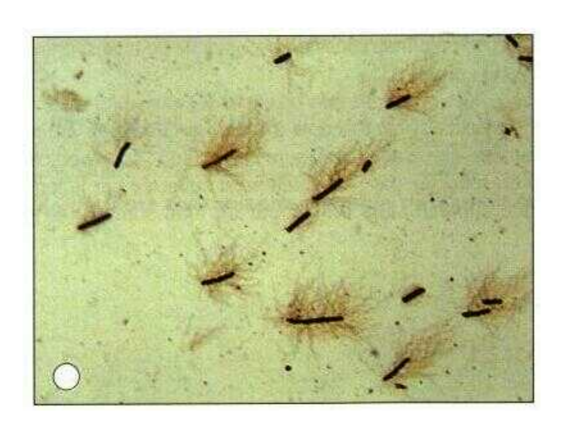
LA MICROSCOPIE OPTIQUE

Le pouvoir résolutif d'un microscope dépend de la longueur d'onde du rayonnement incident. Ainsi, les plus petits objets visibles en microscopie optique mesurent 200 à 300 nm. Les microscopes modernes sont composés, en ce sens qu'ils mettent en œuvre deux lentilles ou plus. Dans le cas le plus simple, l'image se forme au travers de la lentille de l'objectif, puis est agrandie par la lentille de l'oculaire (3a). Les microscopes optiques ordinaires sont appelés microscopes à fond clair, car l'objet apparaît comme une image sombre sur un fond clair (3b). L'ouverture numérique d'une lentille ne pouvant dépasser la valeur 1 dans l'air, le grossissement maximal d'un objectif ne dépasse pas 40 fois. Pour contourner cet inconvénient, un liquide incolore (l'huile à immersion), dont l'indice de réfraction est supérieur à celui de l'air, est disposé entre l'objet et la lentille de l'objectif. Ceci permet d'obtenir un grossissement utile de 100 fois pour l'objectif. Lorsque l'on utilise en plus un oculaire agrandissant 15 fois, on obtient un grossissement utile de 1 500 fois pour un microscope à fond clair. La plupart des microscopes de ce type servent à l'examen de micro-organismes fixés et colorés (3b).

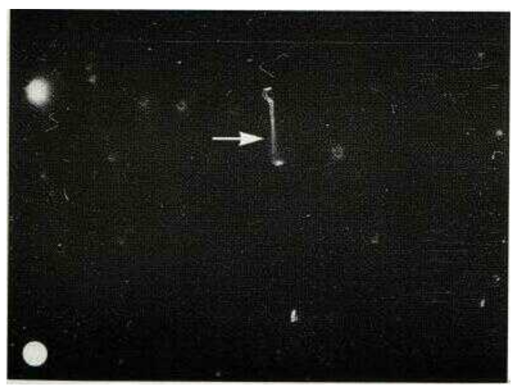
Les micro-organismes vivants, non colorés peuvent être observés à l'aide d'un microscope à fond noir, ou à contraste de phase. En microscopie à fond noir, un écran et un condenseur créent un faisceau de lumière creux concentré sur l'échantillon (4a). Avec ce dispositif, seule la lumière réfléchie ou réfractée par l'échantillon est collectée par la lentille de l'objectif. Le micro-organisme apparaît alors brillant sur un fond sombre (4b).



3 a Illustration du trajet lumineux dans un microscope à fond clair.
b Coloration argentique de *Salinonella typhi* montrant les flagelles.
Dans un microscope à fond clair, la lumière (miroir ou lumière électrique) est concentrée sur le plan de l'échantillon par un condenseur situé sous la platine. L'objectif grossit l'objet en formant une image primaire réelle agrandie. Celle-ci est à son tour grossie par l'oculaire. Le grossissement total est égal à celui de l'oculaire multiplié par celui de l'objectif. Ainsi, avec un objectif x40 et un oculaire x10, le grossissement total sera de 400 **fois.**



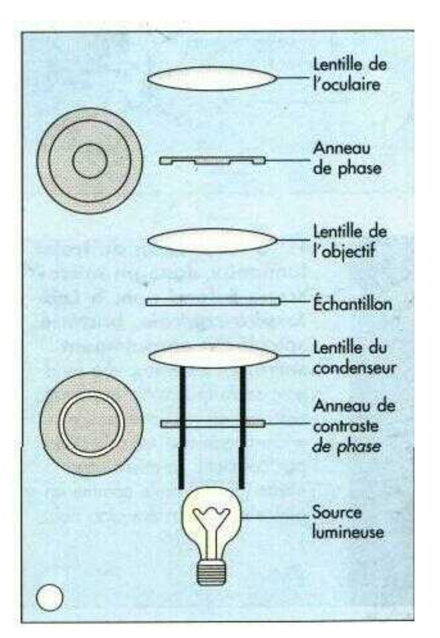
Lentille de l'oculaire
Lentille de l'objectif
Lumière non réfléchie ou non réfractée
Platine porte-objet
Cône lumineux creux
Lentille du condenseur
Ecran
Source lumineuse



4 a Illustration du trajet lumineux dans un microscope à fond noir. b *Leptospira canicola,* bactérie spiralée à enroulement serré. En microscopie à fond noir, seule la lumière incidente réfléchie ou réfractée par le micro-organisme est collectée par l'objectif. Le micro-organisme (flèche) brille comme un phare sur un arrière-plan noir.

En microscopie à contraste de phase (Sa), le condenseur possède un anneau de contraste de phase qui produit aussi un cône de lumière creux, focalisé sur le plan de l'échantillon. Quand le cône passe à travers les éléments réfringents d'une préparation, les rayons sont déviés et retardés d'environ un quart de longueur d'onde La lumière déviée est alors focalisée pour former une image. Les rayons non déviés passent à travers un anneau de phase placé dans une lame de phase. L'anneau de phase est construit de telle façon qu'il avance d'un quart de longueur d'onde le faisceau non dévié. On obtient ainsi des rayons déviés et non déviés approximativement en opposition de phase (une demi-longueur d'onde d'écart), qui s'annulent lorsqu'ils sont réunis. L'image de l'objet apparaît donc dans différents tons sombres sur un fond clair. Comme le microscope à contraste de phase est utilisable pour des échantillons non fixés, il est particulièrement utile pour visualiser les structures internes et les organites des bactéries, champignons et protozoaires (5b).

En microscopie à fluorescence, le micro-organisme est coloré directement ou non (par l'intermédiaire d'un anticorps ou d'une lectine) avec un fluorochrome. Le fluorochrome absorbe la lumière ultraviolette et la réémet à une longueur d'onde supérieure, dans la partie visible du spectre (6a). La couleur de la lumière réémise varie selon la nature du fluorochrome utilisé. Par exemple, la fluorescéine absorbe la lumière UV à la longueur d'onde de 495 nm et la réémet sous forme d'une lumière visible jaune-vert (d'une longueur d'onde de 525 nm) Une coloration directe par l'auramine phéniquée est utilisée, par exemple, dans le diagnostic de la tuberculose (6b).



5 a Illustration du trajet lumineux dans un microscope à contraste de phase, b Oocyste de *Isospora belli* en contraste de phase de Nomarski. (Remarquer les deux sporocystes à l'intérieur de l'oocyste.) Le microscope à contraste de phase convertit de petites différences d'indice de réfraction en différences d'intensité lumineuse. Le contraste de phase de Nomarski est une technique plus sophistiquée qui fournit des images tridimensionnelles.



Lentille de l'oculaire

Filtre d'arrêt des UV

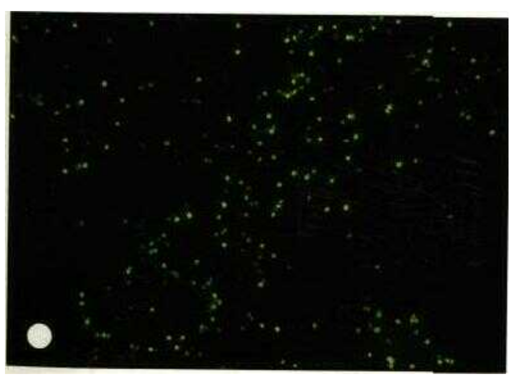
Lentille de l'objectif

Échantillon marqué au fluorochrome
(absorbe les rayons UV et réémet en lumière visible)

Condenseur

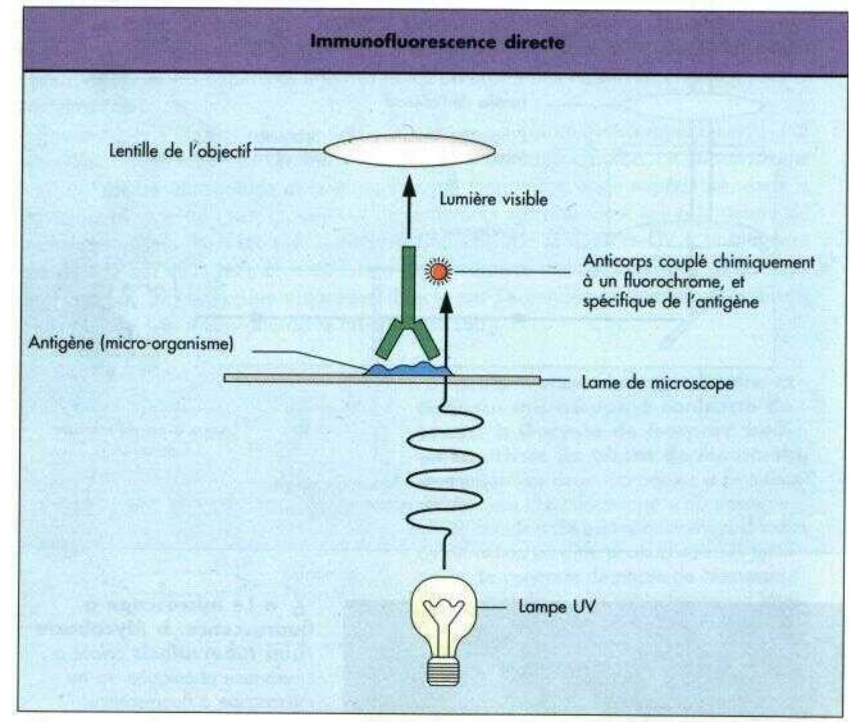
Lampe à arc de mercure
(source UV)

Filtre (retient la lumière visible,
laisse passer les UV)



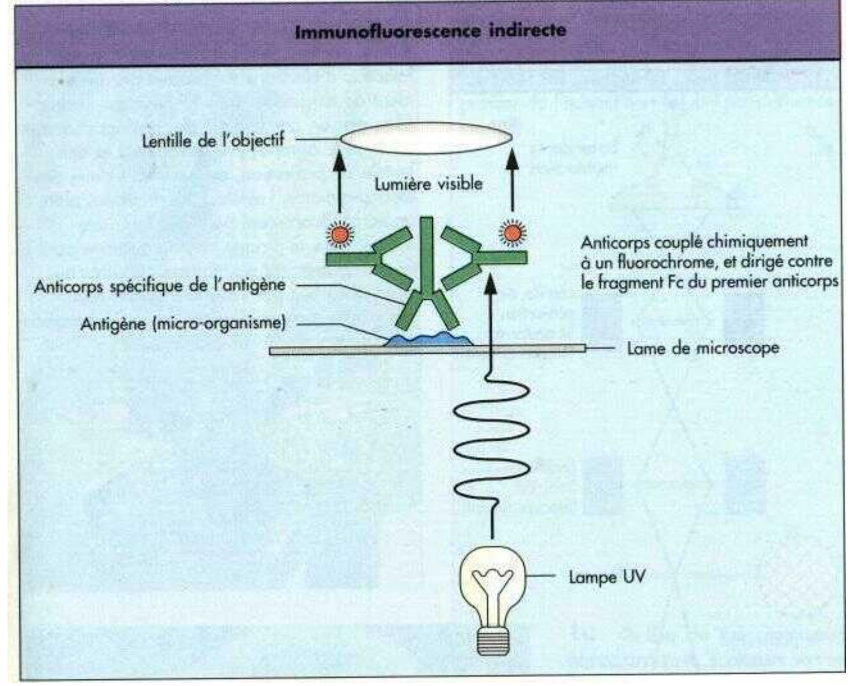
6 a Le microscope à fluorescence, b Mycobacfe-*rium fuberculosis* colore à l'auramine phéniquée, vu au microscope à fluorescence.

L'immunofluorescence utilise des anticorps auxquels sont fixés les fluorochromes par des liaisons covalentes sur le fragment Fc de l'anticorps de telle sorte que le fragment Fab puisse encore se lier à son épitope spécifique. En immunofluorescence directe (7a), le fluorochrome est lié à l'anticorps dirigé contre le micro-organisme. En immunofluorescence indirecte, le fluorochrome est lié à un anticorps dirigé, par exemple, contre les anti-



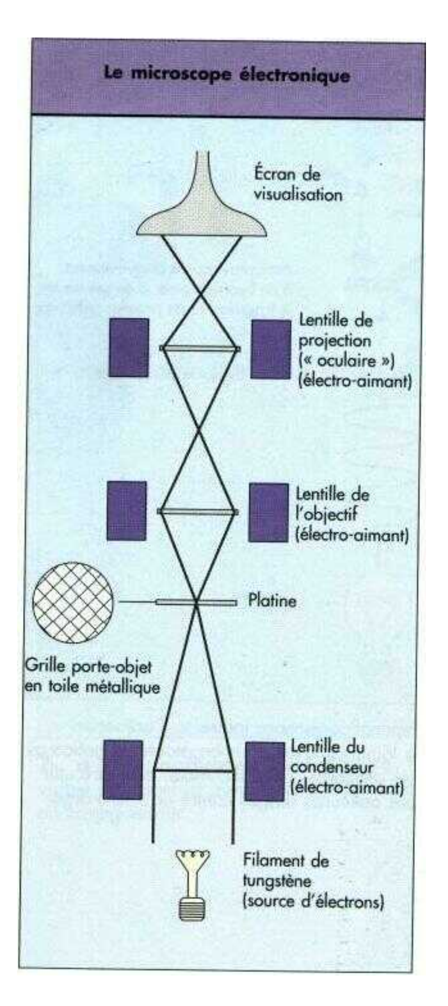
7 a Immunofluorescence directe. En immunofluorescence directe, l'objet est rendu visible par réaction avec un anticorps marqué à la fluorescéine, dirigé contre un épitope du micro-organisme.

corps humains (7b). L'immunofluorescence directe sert à détecter des micro-organismes spécifiques. Sa spécificité est celle de l'anticorps. L'immunofluorescence indirecte peut, elle aussi, être utilisée pour détecter des micro-organismes spécifiques, mais sert surtout à la détection d'anticorps présents dans le sérum du patient et dirigés contre un micro-organisme particulier.



7 b Immunofluorescence indirecte. En immunofluorescence indirecte, l'antisérum dirigé contre le micro-organisme est ajouté, puis la lame est lavée. Puis on ajoute un anticorps marqué à la fluorescéine, et dirigé contre le premier anticorps. Cette technique peut être utilisée pour détecter soit des micro-organismes, soit des anticorps dirigés contre un micro-organisme dans le sérum d'un patient.

De multiples informations ont été obtenues par l'observation en microscopie optique des micro-organismes. Cependant, il est très vite apparu que certains agents transmissibles étaient trop petits (c'est-à-dire < 0,2 u.m) pour être vus par cette méthode. Les électrons se comportent comme des rayons lumineux et peuvent être focalisés, non par des lentilles de verre, mais par des électro-aimants annulaires (en forme de tore) (8). La longueur d'onde des électrons est approximativement 10^5 fois plus courte que celle du rayonnement visible, ce qui signifie qu'un microscope électronique conventionnel peut séparer

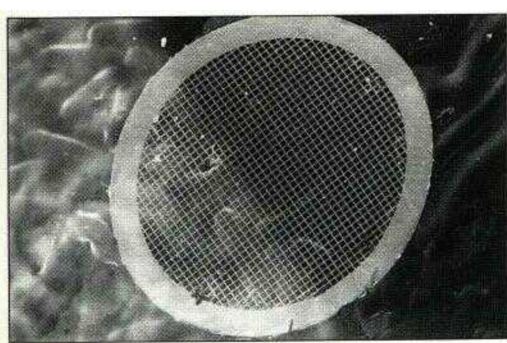


8 Trajet du faisceau d'électrons dans un microscope électronique. Le faisceau d'électrons est produit par un filament de tungstène. Il est focalisé sur l'échantillon par un condenseur électromagnétique. Il est ensuite agrandi par un objectif et une lentille de projection, qui sont tous deux des électro-aimants. Les électrons frappent alors un écran fluorescent pour produire une image, ou une plaque photographique pour un enregistrement permanent. Les électrons étant absorbés par l'air, la colonne dans laquelle se trouvent les lentilles et l'échantillon est maintenue sous un vide poussé.

des objets distants de 0,5 nm. L'image est obtenue lorsque les électrons frappent un écran cathodique (9). Dans le cas du microscope électronique à transmission, le spécimen est maintenu par une petite grille de cuivre (10), et vu à travers les mailles de celle-ci. L'échantillon ne doit pas excéder 100 nm d'épaisseur, et doit être suffisamment maintenu et solide pour résister aux bombardements des électrons sous un vide poussé. Les micro-organismes peuvent être visualisés directement dans un échantillon, après une coloration négative à l'acide phosphotungstique. Par cette technique, la coloration négative adhère

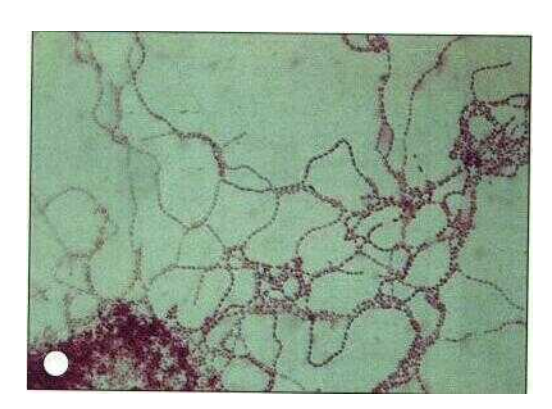


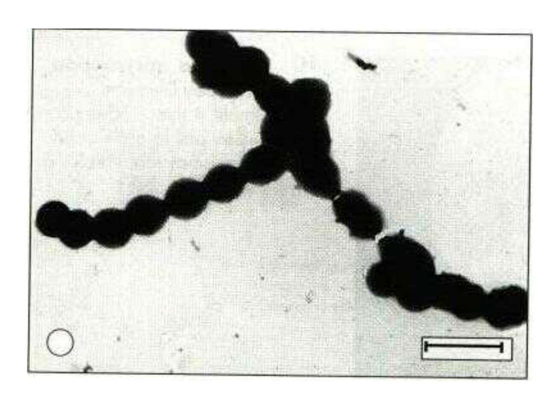
9 Le microscope électronique. Un microscope électronique avec le canon à électrons (e) au sommet de la colonne, **la** platine de l'échantillon (s) et l'écran fluorescent (f).



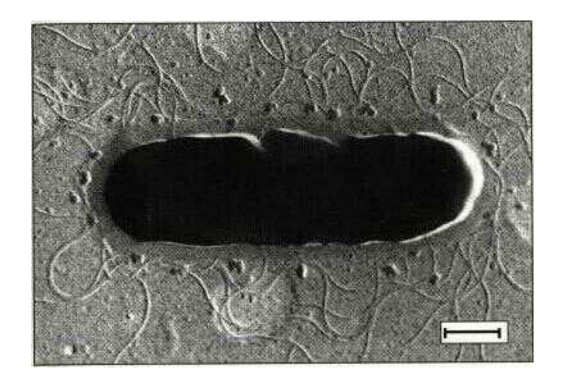
10 Grille de microscope électronique. Diamètre approximatif 4 mm. L'échantillon est maintenu par la grille et les micro-organismes sont visibles à travers les mailles.

aux contours de la bactérie ou du virus et absorbe le faisceau d'électrons. Le micro-organisme apparaît ainsi au premier plan sur un fond clair (11). Une autre méthode consiste à enduire le spécimen d'une fine couche de platine ou d'un autre métal lourd. Par évaporation du métal à partir d'une source placée sous un angle de 45°, on obtient la projection d'une ombre. Cette technique est particulièrement utile pour l'étude des appendices situés à la surface des bactéries, tels les fimbriae (pili) ou les flagelles (12). On peut également marquer immunologiquement les micro-organismes ou leurs appendices pour la microscopie électronique, d'une façon analogue à celle utilisée en immunofluorescence. Dans ce cas, l'anticorps n'est plus couplé à un colorant fluorescent, mais à de minuscules particules d'or opaques aux électrons (13). Une image tridimensionnelle peut être obtenue par microscopie électronique à balayage (14), bien que cette technique soit rarement utilisée à des fins diagnostiques en microbiologie.

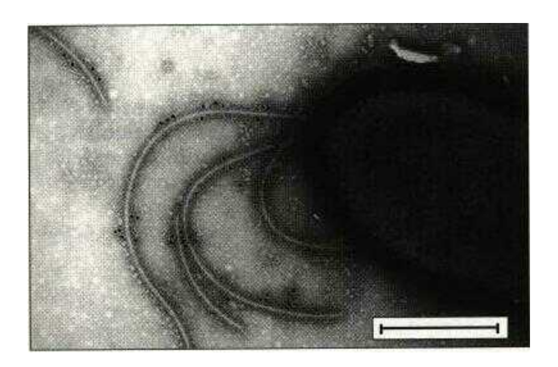




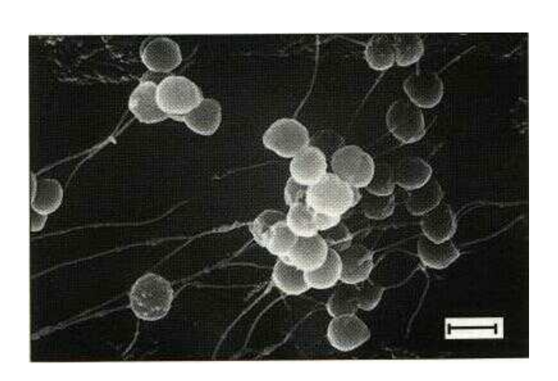
lia Microphotographie optique d'une chaînette de *Streptococcus pyogenes* (Gram positif), b Microphotographie électronique en coloration négative d'une chaînette de *Streptococcus pyogenes* (barre = 2 µm).



12 Microphotographie électronique après ombrage de *Escherichia coli,* montrant les flagelles. Ce sont des appendices protéiques utilisés par la bactérie pour se déplacer en milieu liquide, *(barre = 0,5 µm)*



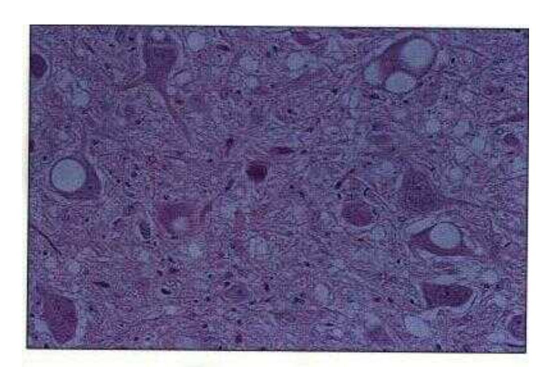
13 Microphotographie électronique après marquage immunologique à l'or, montrant les flagelles de *Pseudomonas aeruginosa.* Un anticorps anti-flagelline couplé à de petites particules d'or s'est lié aux flagelles, *(barre = 0,5 µm)*



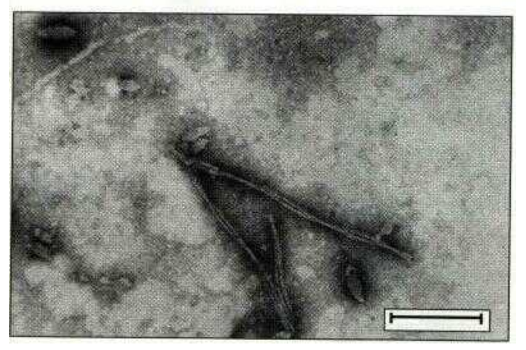
14 Microphotographie électronique à balayage de *Staphylacoccus epidermidis.* Les filaments reliant les sphères ou cocci sont les résidus condensés de la matrice extracellulaire désignée sous le nom de slime. *(barre = 1,0 µm)*

2.
Prions et encéphalopathies spongiformes transmissibles

Les encéphalopathies subaigués spongiformes transmissibles (ESST) sont un groupe de maladies qui affectent diverses espèces animales. Parmi elles, l'homme (kuru, maladie de Creutzfeldt-Jakob, maladie de Gerstmann-Straûssler), les bovins (encéphalopathie spongiforme bovine), le mouton (tremblante du mouton) et le chat (encéphalopathie spongiforme féline). Toutes sont caractérisées par une lente dégénérescence du cerveau. L'examen microscopique *post mortem* du cerveau montre une microcystose des neurones et des neuropiles, produisant un aspect spongiforme (15). On observe la destruction graduelle de ces cellules et une prolifération des astrocytes, sans signe d'inflammation cérébrale (malgré l'encéphalopathie). Ces phénomènes s'accompagnent de l'accumulation d'une protéine fibrillaire appelée protéine du prion (PrP) (16). Bien que certains travaux aient incriminé de petites structures de type viral (de 10 à 12 nm de



15 Coupe cérébrale chez un patient atteint de la maladie de Creutzfeldt Jakob. On remarque la vacuolisation des neurones et des neuropiles, conférant l'aspect spongiforme.



16 Microphotographie électronique en coloration négative de la protéine fibrillaire du prion. Celle-ci s'accumule dans le cerveau des sujets atteints d'encéphalopathie subaiguë spongiforme transmissible. *(barre = 50 nm)*

diamètre) comme étant les agents des ESST, l'hypothèse selon laquelle PrP serait une protéine auto-réplicative et l'agent des ESST est la plus communément admise. PrP possède la même séquence en acides aminés qu'une protéine normalement présente dans le cerveau. Une modification post-transcriptionnelle la rendrait résistante aux enzymes protéolytiques, provoquant son accumulation dans le cerveau des individus atteints.

Le kuru est une maladie transmise par des pratiques de cannibalisme rituel, se limitant à une aire tribale de Papouasie-Nouvelle Guinée (groupe linguistique des Fore). L'interdiction des pratiques cannibales a permis d'éviter l'apparition de nouveaux cas.

La maladie de Creutzfeldt-Jakob, au contraire, connaît une distribution mondiale. 11 s'agit d'une affection rare touchant environ un individu sur un million. Elle a pu être transmise lors d'interventions neurochirurgicales stéréotaxiques, lors de transplantations de cornée, ou encore par injection d'hormone de croissance extraite d'hypophyses humaines. La période d'incubation est longue (1 à 30 ans). La maladie évolue inexorablement vers la démence et la mort. Il n'existe pas de traitement spécifique, pas plus que de méthode diagnostique non invasive. Le diagnostic est réalisé sur des biopsies cérébrales, ou à l'autopsie.

3.
Virus et infections virales

Bien que l'on ait su depuis un certain temps que de très petits agents « filtrables » étaient responsables de certaines infections humaines, « l'ère des virus » n'a pas débuté avant 1950. Au cours des quarante années qui ont suivi, nos connaissances se sont accrues de façon exponentielle grâce aux cultures cellulaires et virales, à la sérologie et aux techniques sans cesse plus performantes de biologie moléculaire.

Les virus sont les plus petits et les plus primitifs des agents infectieux conventionnels. Ils diffèrent de la plupart des bactéries, champignons et protozoaires par le fait qu'ils sont des parasites intracellulaires obligés. Les virus ne disposent pas de l'équipement enzymatique nécessaire pour leur réplication. Pour se reproduire, ils doivent donc « pirater » les réserves énergétiques de la cellule hôte, ses nucléotides, ses acides aminés, ses lipides, ainsi que ses voies métaboliques de biosynthèse. En fait, la plupart des virus possèdent des facteurs qui détournent les processus métaboliques des cellules hôtes, au profit de la production de nouvelles particules virales. Ceci est en partie responsable de la mort des cellules infectées, et contribue aux manifestations cliniques infectieuses. Les autres différences majeures entre les virus et les micro-organismes plus complexes sont les suivantes :

- un génome viral est constitué d'ARN ou d'ADN, jamais des deux simultanément
- les bactéries, champignons et protozoaires se reproduisent par scissiparité, tandis que les virus utilisent un mode complexe de désassemblage, réplication et réassemblage au sein de la cellule hôte
- les virus n'ont ni paroi ni organisation cellulaire, et sont beaucoup plus petits que les autres micro-organismes.

Deux conséquences majeures découlent de ces différences. La première est qu'après excrétion par l'hôte, le nombre des particules virales ne peut que décroître, celles-ci étant incapables de se multiplier dans un environnement inanimé, à la différence des bactéries et des champignons. La seconde est qu'il est beaucoup plus difficile de concevoir des antiviraux efficaces et atoxiques que des drogues antibactériennes, les virus utilisant les systèmes cellulaires de l'hôte.

CLASSIFICATION DES VIRUS

A l'origine, les virus ont été classés selon leur pouvoir pathogène, et selon des considérations épidémiologiques et écologiques. La classification actuelle repose largement sur des considérations biophysiques, antigéniques, et de biologie moléculaire.

Les virus sont divisés en familles, sous-familles et genres selon la structure et l'organisation de leur génome, la symétrie de leur capside, la taille, le lieu d'assemblage et la présence éventuelle d'une enveloppe lipidique. Au sein d'un même genre, les différents membres sont défi-

nis par la présence de différents antigènes (ex. les subdivisions des Echovirus et Coxsackie-virus), par des différences génomiques (Papillomavirus humains), ou même par des différences dans la présentation clinique ou les vecteurs (ex. *FIaviviridae).*

GÉNOME

La première grande subdivision est faite selon la nature, ARN ou ADN, du génome (17, 18). Le génome des virus à ARN peut être simple brin (ex. *Picornaviridae), ou* double brin (ex. Rotavirus). Chez certains, il peut être circulaire (ex. *Arenaviridae),* mais il est linéaire chez la plupart (17), constitué d'un seul long brin (ex. *Retroviridaé)* ou de plusieurs segments (ex. *Orthomyxoviridae* ou Rotavirus). Enfin, le génome simple brin peut être à polarité positive (traduisible directement en polypeptides viraux, ex. *Coronaviriofae),* ou à polarité négative (devant être transcrit en ARNm, comme chez les *Myxoviridae* et les *Rhabdoviridae) ou* même ambisens (ex. *Bunyaviridaé).*

Les virus à ADN (18) ont un génome double brin linéaire (ex. *Herpesviridaé)* ou circulaire (ex. *Adenoviridaé).* Les seuls virus à ADN simple brin sont les Parvovirus, et leur génome est en général à polarité négative.

SYMÉTRIE DE LA CAPSIDE

La capside est une coque protéique qui entoure et protège le génome viral. Les sous-unités protéiques qui la composent sont appelées capsomères. Les capsomères et le génome forment la nucléocapside. Les sous-unités peuvent être assemblées soit en capside à symétrie hélicoïdale (19), soit en structure tridimensionnelle à trois axes de symétrie (capside à symétrie cubique). En fait, la plupart des capsides à symétrie cubique possèdent vingt facettes, et sont dites icosaédriques (du grec *eicosa,* vingt, et *hedron,* côté). Enfin, certains virus ont une symétrie indéfinie (ex. *Flaviviridaé)* ou complexe (ex. *Poxviridaé).*

ENVELOPPE LIPIDIQUE

En général, les virus non enveloppés (nus) (ex. Rotavirus, *Picornaviridae, Adenoviridaé)* sont capables de survivre plus longtemps dans un milieu inanimé que ceux qui possèdent une enveloppe lipidique (ex. *Myxoviridae, Retroviridaé, Herpesviridaé).* Pour ces derniers, exception faite des *Poxviridae,* la perte de l'enveloppe lipidique s'accompagne de la perte du pouvoir infectieux. Ainsi, les virus enveloppés peuvent être inactivés par l'éther ou par des détergents. Ils présentent également des spicules de glycoprotéines à leur surface, qui permettent l'attachement et la pénétration dans la cellule hôte. Lenveloppe peut être constituée par bourgeonnement au travers de la membrane nucléaire (20), de l'appareil de Golgi (ex. Hantavirus), ou de la membrane cytoplasmique (21).

Virus à ARN d'importance médicale								
				Génome				
	Taille (nm)	Enveloppe	Symétrie *	Brin	Polarité	Segmenté	Taille (kb)	Site d'assem-blage†
Picornaviridae	28-30	Non	I	Simple, linéaire	Positive	Non	7,2-8,4	C
Entérovirus (Polio, Coxsackie, ECHO)								
Heparnavirus								
Rhinovirus								
Astrovirus	27-30	Non	I	Simple, linéaire	Positive	Non	7,8	C
Caliciviridae	35-40	Non	I	Simple, linéaire	Positive	Non	8,0	C
Hépatite E	35-40	Non	I	Simple, linéaire	Positive	Non	7,8-8,0	C
Hépatite D (virus Δ)	36	Non	I	Simple, circulaire	Négative	Non	1,2	C
Reoviridae								
Rotavirus	70-80	Non	I (double)	Double, linéaire	—	Oui (11)	16-21	C
Flaviviridae	40-50	Oui	?	Simple, linéaire	Positive	Non	10	C, G
Amaril (fièvre jaune)								
Hépatite C								
Togaviridae	60-70	Oui	I	Simple, linéaire	Positive	Non	12	C, M
Alphavirus								
Rubella								
Coronaviridae	50-160	Oui	H	Simple, linéaire	Positive	Non	16-21	C, M
Rhabdoviridae	75 × 180	Oui	H	Simple, linéaire	Négative	Non	13-16	C, M
Retroviridae	80 × 130	Oui	I	Simple, linéaire	Positive	Non	3,5-9	C, M
Oncornavirinae (HTLVI)								
Spumavirinae								
Lentivirinae (VIH 1 et 2)								

* H = hélicoïdale; I = icosaédrique. † C = cytoplasme; G = Golgi; M = membrane cytoplasmique.

Virus à ARN d'importance médicale *(suite)*								
				Génome				
	Taille (nm)	Enveloppe	Symétrie *	Brin	Polarité	Segmenté	Taille (kb)	Site d'assem-blage†
Arenaviridae	50-300	Oui	H	Simple, linéaire	Négative et ambisens	Oui (2)	10-14	C, G
Chorioméningite lymphocytaire (CML)								
Lassa, Machupo, Junin, Sabia								
Bunyaviridae	90-120	Oui	H	Simple, linéaire	Négative	Oui (3)	13,5-21	C, G
Bunyavirus								
Nairovirus								
Phlébovirus								
Hantavirus								
Orthomyxoviridae	90-120	Oui	H	Simple, linéaire	Négative	Oui (7 ou 8)	16-20	C, M
Influenza A, B et C								
Paramyxoviridae	150-300	Oui	H	Simple, linéaire	Négative	Non	16-20	C, M
Paramyxovirus (1-4, oreillons)								
Pneumovirus (VRS)								
Morbillivirus (rougeole)								
Filoviridae	80 × 1000	Oui	H	Simple, linéaire	Négative	Non	12,7	C, M
Marburg, Ebola								

* H = hélicoïdale ; I = icosaédrique. † C = cytoplasme; G = Golgi; M = membrane cytoplasmique.

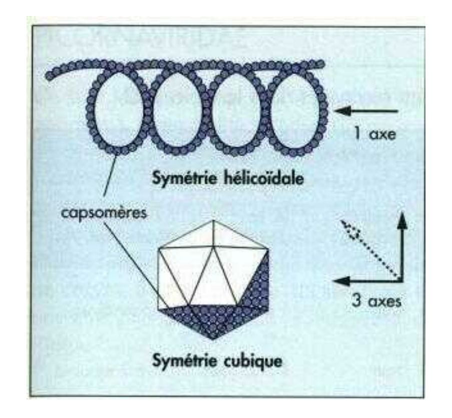
17 Virus à ARN d'importance médicale.

Virus à ADN d'importance médicale

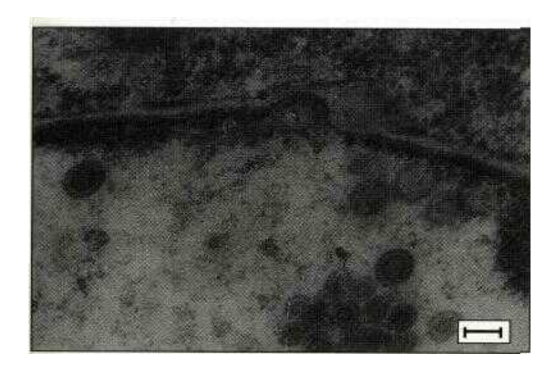
				Génome				
	Taille (nm)	Enveloppe	Symétrie *	Brin	Polarité	Segmenté	Taille	Site d'assemblage de la capside
Parvoviridae	18-21	Non	I	Simple, linéaire	Surtout négative	Non	5 kb	N
B19								
Papovaviridae	45-55	Non	I	Double, circulaire	—	Non	5-8 kbp	N
Polyoma (JC, BK)								
Papilloma (1-75)								
Hepadnaviridae	42	Oui	I	Double, circulaire	—	Non	3,2 kbp	N
Adenoviridae (1-49)	70-90	Non	I	Double, linéaire	—	Non	36-38 kbp	N
Herpesviridae	150-200	Oui	I	Double, linéaire	—	Non	120-200 kbp	N
HHV-1 * (herpes simplex I)								
HHV-2 (herpes simplex II)								
HHV-3 (varicella zoster)								
HHV-4 (Epstein-Barr)								
HHV-5 (Cytomégalovirus)								
HHV-6								
HHV-7								
HHV-8 (sarcome de Kaposi)								
Poxviridae	350 × 400	Oui †	Complexe	Doule, linéaire		Non	130-280 kbp	C
Orthopox (variole, cowpox)								
Parapox (orf)								
Molluscum contagiosum								
Yabapox, Tanapox								

* HHV = Herpès virus humain.
† = enveloppe présente, mais pas indispensable à l'infectivité. N = noyau; C = cytoplasme.

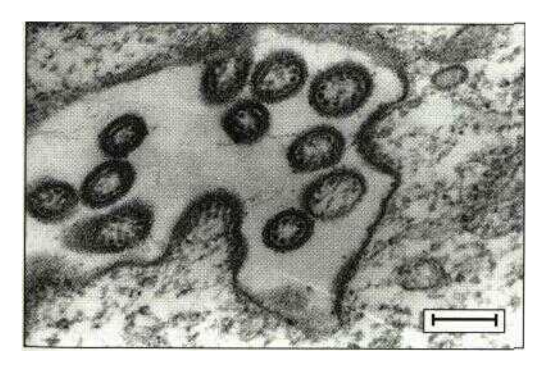
18 Virus à ADN d'importance médicale.



19 Symétries hélicoïdale et cubique de la nucléocapside virale.



20 Microphotographie électronique d'une coupe mince montrant le virus varicelle-zoster acquérant son enveloppe lipidique par bourgeonnement à travers la membrane nucléaire *(barre = 0 1 \im)*



21 Microphotographie électronique d'une coupe mince montrant un Parainfluenzavirus acquérant son enveloppe lipidique par bourgeonnement à travers la membrane cytoplasmique *(barre = 0,1 \im)*

VIRUS NUS A ARN

Les infections dues à des virus nus à ARN sont recensées dans le tableau **22.**

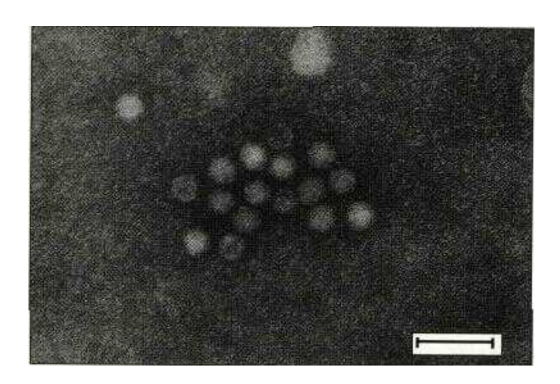
Infections par les virus à ARN nus					
	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée de l'infectivité
Picornaviridae Poliovirus	Poliomyélite, encéphalite	Asymptomatique (90-95 %)	Oui	1 à 35 jours	>5 semaines
ECHO	Exanthème de Boston, ènanthèmes, méningo-encéphalites, infection respiratoire, myocardite	Asymptomatique (90-95 %)	Non	1 à 35 jours	1 à 3 semaines
Coxsackie A	Exanthèmes, énanthèmes, conjonctivite, myocardite, méningo-encéphalite, infection respiratoire	Asymptomatique (90-95 %)	Non	1 à 20 jours	3 à 5 semaines
Coxsackie B	Méningo-encéphalite, exanthème, pleurodynie (maladie de Bornholm, *NdT*) myocardite, infection respiratoire	Asymptomatique (90-95 %)	Non	1 à 20 jours	3 à 5 semaines
Heparnavirus	Hépatite aiguë A	Asymptomatique (50 à 80 %)	Oui	2 à 6 semaines	1 semaine avant à 1 semaine après l'ictère
Astrovirus	Diarrhée, vomissements		Non	2 à 5 jours	7 à 10 jours
Calicivirus	Diarrhée, vomissements		Non	2 à 5 jours	6 à 8 jours
Hépatite E	Hépatite aiguë	Asymptomatique	Non	25 à 50 jours	7 à 10 jours
Hépatite D	Hépatite fulminante (co-infection indispensable par le HBV)		Non	2 à 6 mois	Toute la vie
Rotavirus	Diarrhée, vomissements		Non	3 à 5 jours	6 à 14 jours

22 Infections à virus nus à ARN.

PICORNAVIRIDAE

Ce sont les plus petits (20-30 nm) des virus à ARN (23). Leur nom est un acronyme de *po*liovirus, insensibilité à l'éther (ils ne sont pas enveloppés), coxsackievirus, virus orphelin, /hinovirus et RNA. De plus, *pico* signifie petit en grec. Il existe cinq genres de *Picornaviridae* (Aphtovirus, Cardiovirus, Entérovirus, Heparnavirus, Rhinovirus), dont trois seulement (Entérovirus, Heparnavirus, Rhinovirus) sont pathogènes pour l'homme.

La température optimale d'isolement des Rhinovirus est de 33 °C, analogue à celle **de** l'arbre respiratoire supérieur. Les Rhinovirus sont responsables de rhumes, d'angines et de coryza. Il existe plus de 118 sérotypes différents, l'un ne conférant pas nécessairement **une** immunité **aux autres. Les Rhinovirus sont responsables d'environ la moitié des cas de** rhume banal.



23 Microphotographie électronique en coloration négative d'un Picornavirus. Le virus est nu, avec une capside de symétrie cubique et un génome ARN simple brin positif (PM environ 2,5 x 10^6). *(barre = 100 nm)*

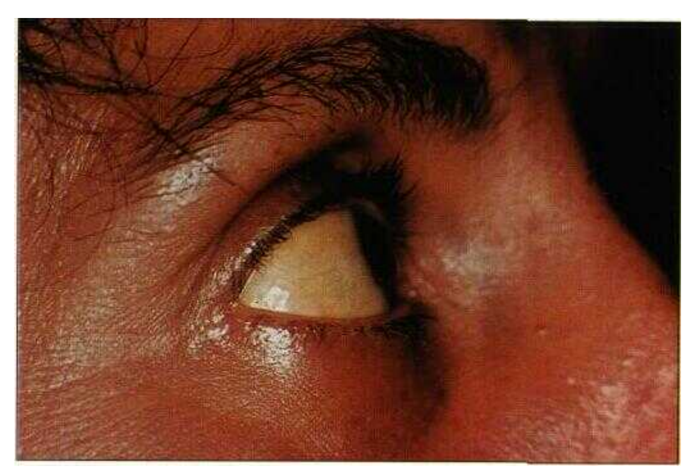
Les Entérovirus sont divisés en Poliovirus, Echovirus, et Coxsackievirus. Les représentants du genre découverts plus récemment sont tous appelés Entérovirus (à partir d'Entérovirus 68). Les infections à Entérovirus sont généralement asymptomatiques, et au cours des épidémies, on note un phénomène d'« iceberg », où, par exemple, seuls 1 à 10% des patients infectés à Poliovirus présentent une maladie. Les autres constituent un réservoir silencieux qui propage l'infection.

On définit grâce à des réactions de neutralisation trois sérotypes de Poliovirus (1, 2 et 3), avec peu de protection croisée entre les sérotypes. L'homme est l'hôte naturel, mais ces virus peuvent être facilement cultivés sur des lignées cellulaires humaines et simiennes.

Les Coxsackievirus tirent leur nom d'un village de l'État de New York. Ils sont divisés en deux groupes, A (24 sérotypes) et B (15 sérotypes) sur la base de leur pouvoir pathogène pour la souris. Les virus du groupe A sont difficiles à cultiver *in vitro,* mais infectent les souriceaux nouveau-nés. Ils sont associés à divers exanthèmes (syndrome main-pied-bouche) et énanthèmes (par exemple l'herpangine), à des infections neurologiques et des conjonctivites (A24). Les virus du groupe B sont responsables de myalgies épidémiques (maladie de Bornholm), de méningites et de myocardites.

Echo est un acronyme de enteric cytopathic Auman orphan (le terme « orphelin » signifiant l'absence d'association à une pathologie spécifique). La plupart des Echovirus se cultivent aisément sur des lignées cellulaires humaines et simiennes. Ils sont principalement associés à des méningites aseptiques, des infections néonatales et des exanthèmes. L'Entérovirus 68 est associé à des infections respiratoires, l'Entérovirus 70 à des conjonctivites aiguës hémorragiques, et l'Entérovirus 71 à des méningoencéphalites et à des syndromes proches de la poliomyélite.

Le virus de l'hépatite A, à l'origine d'épidémies et de cas sporadiques d'hépatite (24), était désigné comme Entérovirus 72, mais est maintenant rattaché à une famille séparée, les *Heparnaviridae.* Les sources et modes de dissémination des Picornavirus et virus apparentés sont résumés dans le tableau **25.**



24 Patient atteint d'hépatite infectieuse aiguë due au virus de l'hépatite A. Remarquer la scléreuse ictérique (jaune).

Origine et modes de transmission des virus											
	Homme	Animaux	Insecte vecteur	Transmission oro-fécale	Inhalation d'aérosols	Inoculation directe ou indirecte par voie		Transmission nosocomiale	Transmission par le sang	Passage transplacentaire	Transmission sexuelle
						muqueuse	cutanée				
Virus à ARN											
Entérovirus	+	–	–	+	(+)	(+)	–	+	–	?	(+)
Heparnavirus	+	–	–	+	–	(+)	–	+	(+)	–	+
Rhinovirus	+	–	–	–	(+)	+	–	+	–	–	–
Astrovirus	+	–	–	+	?	–	–	+	–	–	–
Calicivirus	+	–	–	+	?	–	–	+	–	–	–
Hépatite D	+	–	–	–	–	–	–	(+)	+	–	+
Rotavirus	+	–	–	+	+	–	–	+	–	–	–
Flavivirus	(+)	+	+	–	–	–	–	–	–	?	–
Hépatite C	+	–	–	–	–	–	–	(+)	+	–	?
Togavirus	(+)	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
Rubellavirus	+	–	–	–	+	+	–	(+)	–	+	–
Coronavirus	+	–	–	–	(+)	+	–	–	–	–	–
Virus de la rage	–	+	–	–	–	+	+*	–	–	–	–
Rétrovirus	+	–	–	–	–	–	–	(+)	+	+	+
Arénavirus	(+)	+	–	–	+	–	–	(+)	–	?	(+)
Bunyavirus	–	+	+	–	–	–	–	+	–	–	–
Hantavirus	–	+	–	–	+	–	+*	–	–	–	–
Influenza	+	(+)	–	–	+	+	–	+	–	?	–
Para-influenza et oreillons	+	–	–	–	+	+	–	+	–	?	–
Virus de la rougeole	+	–	–	–	+	+	–	+	–	–	–
Virus respiratoire syncytial	+	–	–	–	+	+	–	+	–	–	–
Filovirus	(+)	+	–	–	+	–	–	(+)	–	–	–

+ = Source ou voie principale. (+) = Source ou voie secondaire. – = Source ou voie non décrite. * = Transcutanée par morsure animale. ? = Possible, anecdotique, ou supposé.

Origine et modes de transmission des virus *(suite)*

	Homme	Animaux	Insecte vecteur	Transmission oro-fécale	Inhalation d'aérosols	Inoculation directe ou indirecte par voie		Transmission nosocomiale	Transmission par le sang	Passage transplacentaire	Transmission sexuelle
						muqueuse	cutanée				
Virus à ADN											
Parvovirus	+	–	–	(+)	+	+	–	–	(+)	+	–
Polyomavirus	+	–	–	–	+	+	–	–	–	–	?
Papillomavirus	+	–	–	–	–	+	+	(+)	–	–	+
Adénovirus	+	–	–	+	+	+	–	+	?	–	–
Hepadnavirus	+	–	–	–	–	(+)	–	+	+	–	+
HHV-1 et 2	+	–	–	–	–	+	+	(+)	–	(+)	+
HHV-3	+	–	–	–	+	+	–	(+)	–	+	–
HHV-4	+	–	–	–	–	+	–	(+)	+	(+)	+
HHV-5	+	–	–	–	–	+	–	(+)	+	+	+
HHV-6	+	–	–	–	–	+	–	–	+	–	+
HHV-7	+	–	–	–	?	?	–	–	?	?	?
Poxvirus	+	+	–	–	+	+	+	–	–	(+)	–

+ = Source ou voie principale. (+) = Source ou voie secondaire. – = Source ou voie non décrite. * = Transcutanée par morsure animale. ? = Possible, anecdotique, ou supposé.

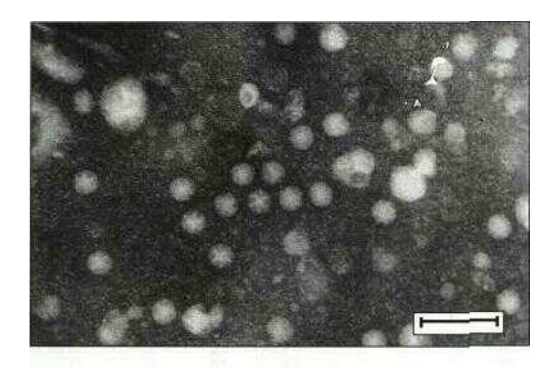
25 Origine et modes de transmission des virus.

ASTROVIRIDAE

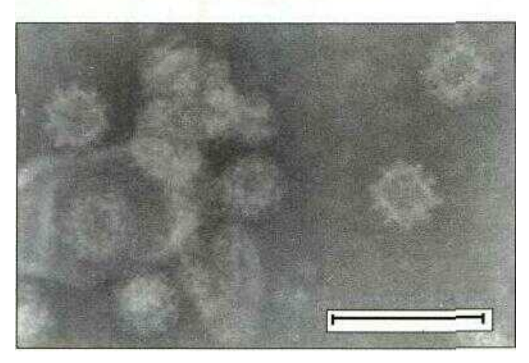
Ce sont des virus sans enveloppe, arrondis, de petite taille (27-30 nm), dont la surface présente un motif caractéristique en étoile (26). On compte au moins cinq sérotypes dont le premier prédomine au Royaume-Uni Celui-ci est à l'origine de diarrhées et de vomissements infantiles (10 à 12% des cas), qui surviennent en hiver dans les régions tempérées. Le diagnostic peut être porté par microscopie électronique, détection antigénique, ou RT-PCR (amplification enzymatique en chaîne utilisant la transcriptase inverse).

CALICIVIRIDAE

II s'agit également de virus nus, arrondis, de petite taille (35-40 nm). Leur capside possède une configuration en étoile de David (27), formant à la surface du virus de petites dépressions en forme de coupe (leur nom provient du grec *Calyx,* qui signifie coupe). Les



26 Microphotographie électronique en coloration négative d'un Astrovirus. Remarquer l'étoile à six branches caractéristique. Les Astrovirus ont un ARN positif (7,8 kb) monocistronique. Le protopolypeptide est ensuite clivé par une protéase pour individualiser les protéines de structure, *(barre = 100 nmj*

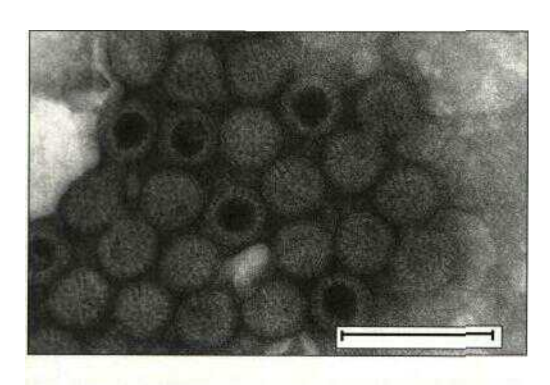


27 Microphotographie électronique en coloration négative d'un Calicivirus. Remarquer les dépressions en forme de coupe à la surface du virus. Le génome est un brin positif d'ARN (8 kb). fbarre = *100 nm)*

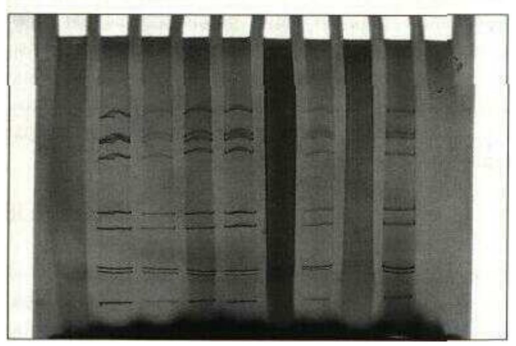
Calicivirus sont responsables d'épidémies de diarrhées et vomissements affectant la plupart des classes d'âge L'agent de Norwalk est responsable d'un syndrome digestif hivernal. Enfin, il est probable que le virus de l'hépatite E (HEV) soit aussi un Calicivirus. Le HEV est à l'origine d'hépatites épidémiques de transmission oro-fécale Le diagnostic des infections à Calicivirus repose sur la microscopie électronique, la détection antigénique, la RT-PCR, ou, pour le HEV, la détection d'anticorps.

REOVIRIDAE

Des trois genres que compte cette famille (Orbivirus, Réovirus, Rotavirus), seuls les Rotavirus ont une importance en pathologie humaine. Ce sont des virus de taille moyenne (70 nm), dont la double capside a la forme caractéristique d'une roue en microscopie électronique (en latin, *rota* signifie la roue) (28). Le génome est constitué de onze fragments d'ARN double brin (29); il est détectable directement dans les selles des patients infectés. Lanalyse du profil



28 Microphotographie électronique en coloration négative d'un Rotavirus. La double capside confère au virus une forme typique en roue. *(barre = 200 nm]*



29 Electrophorèse en gel de polyacrylamide de l'ARN de Rotavirus directement extrait des selles. L'ARN est visible par coloration argentique. Le profil de migration fournit de précieuses informations épidémiologiques.

électrophorétique des fragments permet de différencier les souches, et d'obtenir ainsi des informations épidémiologiques On connaît 7 sérogroupes de Rotavirus (A à G), mais seuls le groupe A et, dans une moindre mesure, les groupes C et D infectent 1 homme II existe neuf sérotypes et les anticorps dirigés contre un sérotype sont protecteurs Malheureusement, les anticorps agissant contre un sérotype ne sont pas protecteurs vis-à-vis des autres Les Rotavirus sont la cause principale de diarrhée chez les enfants de moins de cinq ans (20 a 60% des cas) Là encore, les infections prédominent en hiver dans les régions tempérées Le diagnostic repose sur la microscopie électronique, la détection antigénique, l'électrophorèse de 1 ARN génomique, ou la RT PCR

VIRUS A ARN ENVELOPPES

Les virus à ARN enveloppés d'importance médicale et les pathologies qui leur sont associées sont indiqués dans le tableau **30** Le terme d'Arbovirus a été employé pour désigner des virus transmis à l'homme par piqûre d'insecte (arthropod-borne) Ces virus se multiplient dans l'insecte vecteur et sont injectés a l'homme lors du repas suivant Cette classification était basée sur des considérations écologiques En fait, les Arbovirus regroupent plusieurs familles, en particulier les *Togaviridae*, les *Flaviviridae* et les *Bunyaviridae*

FLAVIVIRIDAE

Ce sont des virus enveloppés de petite taille (40 à 50 nm), à ARN génomique simple brin à polarité positive (environ 10 kb) La symétrie de leur capside est indéterminée Beaucoup d entre eux sont transmis par des moustiques et sont responsables de fièvres hémorragiques virales (virus de la fièvre jaune et de la dengue) ou de menmgoencephalites (virus japonais B et virus de l'encéphalite de St Louis) Le diagnostic peut s'effectuer par isolement du virus (qui nécessite des installations confinées spéciales), ou par détection d une réponse anticorps

Le virus de l'hépatite C est probablement un Flavivirus, mais n'est pas transmis par un insecte II représente une cause importante d hépatite non-A non-B acquise par voie parentérale (environ 90% des cas) L'infection se transmet par le sang au cours de transfusions, de transplantations, de piqûres d aiguille ou lors de partage de seringue chez les toxicomanes par voie intraveineuse Elle entraîne une hépatite chronique, le virus pouvant persister la vie entière dans le foie Le diagnostic repose sur la détection d'anticorps spécifiques, ou par détection du génome viral par RT-PCR.

TOGAVIRIDAE

Les Alphavirus, Rubivirus et peut-être aussi les Pestivirus sont des genres, pathogènes pour l'homme (31). Les Alphavirus sont principalement transmis par des moustiques et

sont à l'origine d'encéphalites (ex virus de l'encéphalite équine orientale) ou d'exanthème fébrile avec polyarthrite (ex chikungunya). Tous possèdent un génome ARN linéaire simple brin a polarité positive d'environ 12 kb Ces virus se répliquent dans le cytoplasme et sont libérés par bourgeonnement Le diagnostic peut être sérologique, et/ou direct par culture virale

Le virus de la rubéole est le seul représentant du genre des Rubivirus II se transmet par contact ou par voie aérienne, et peut être responsable d'un exanthème fébrile de l'enfant, bien que l'infection soit souvent asymptomatique II pose surtout problème lors d'une infection au cours de la grossesse Le virus de la rubéole peut en effet traverser le placenta pour infecter le fœtus, provoquant la mort *m utero* ou des malformations congénitales

Les Pestivirus provoquent des diarrhées dans les élevages bovins (virus de la diarrhée bovine) et porcins (fièvre porcine européenne). Il a récemment été rapporté l'association de diarrhées humaines à un Pestivirus

ÀRENAVIRIDAE

Ce sont des virus à ARN pléiomorphes, enveloppés dont la taille varie entre 50 et 300 nm de diamètre Ils contiennent des granulations denses aux électrons, riches en ARN, qui ressemblent à des nbosomes (32) et donnent l'apparence de grains de sable (en grec, *arena* signifie grain de sable) Leur génome consiste en deux simples brins d'ARN à polarité positive ou ambisens Ils peuvent être linéaires ou en boucle Les infections sont des zoonoses Les différents Arénavirus infectent asymptomatiquement et de façon persistante diverses espèces de rongeurs, et 1 homme s'infecte par contact avec leurs déjections Le virus de la chonoméningite lymphocytaire est le seul Arénavirus rencontre en Europe II est excrété dans les urines de souris *(Mus musculus)* et il est une des rares causes de méningite aseptique Les autres Arénavirus sont à 1 origine de fièvres hémorragiques virales En Afrique de 1 Ouest, le virus de la fièvre de Lassa infecte de façon persistante le rongeur *Mastomys natalensis,* dans les urines duquel il est excrété L inhalation ou l'ingestion d'urine peut entraîner une infection qui peut être asymptomatique ou varier d'une simple pharyngite a une fièvre hémorragique sévère, avec saignement cutané et viscéral. L'hypothèse d une transmission de personne a personne ne peut être exclue Les virus des fièvres hémorragiques sud-américaines, Junin (en Argentine), Machupo (en Bolivie) et Sabia (au Venezuela) infectent de façon persistante les rongeurs du genre *Calomys.* Ils produisent des tableaux cliniques similaires à celui de la fièvre de Lassa

BUNYAVIRIDAE

Ils constituent une grande famille de virus, dont certains sont transmis par des insectes (Bunyamwera, Nairo et Phlébovirus), certains infectent des plantes (Tospovirus), d'autres causent des zoonoses (Hantavirus) Cependant, tous sont des virus sphénques (95 nm),

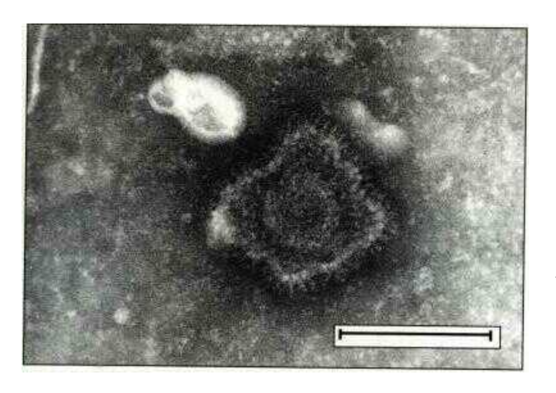
Infections par les virus à ARN enveloppés

	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Transmission et, durée d'infectivité
Flaviviridae					
Amaril (fièvre jaune)	Fièvre hémorragique	Méningo-encéphalite	Oui	3 à 6 jours	Moustique (*Aedes*)
Dengue	Fièvre hémorragique	Syndrome fébrile (enfants)	Non	2 à 7 jours	Moustique (*Aedes*)
Encéphalite japonaise B	Encéphalite	Asymptomatique (96 à 99 % des cas)	Oui	4 à 14 jours	Moustique (*Culex*)
St Louis	Encéphalite	Asymptomatique (94 à 99 %)	Non	5 à 21 jours	Moustique (*Culex*)
Hépatite C	Hépatite aiguë et chronique	Asymptomatique (20 à 40 %)	Non	40 jours	6 mois à toute la vie
Togaviridae					
Encéphalite équine de l'Est	Encéphalite	Asymptomatique (88 à 97 %)	Non	5 à 15 jours	Moustique (*Aedes*)
Chikungunya	Fièvre, éruption, polyarthrite	—	Non	1 à 6 jours	Moustique (*Aedes*)
Rubella	Rubéole	Asymptomatique (80 à 90 %)	Oui	16 à 21 jours	de 1 semaine avant l'éruption à 3 semaines après
Coronavirus	Rhume commun	Pneumopathie, diarrhée	Non	3 jours	1 semaine
Rage	Encéphalite (mortalité >99 %)		Oui	De 9 jours à plusieurs années selon le site d'inoculation	Jusqu'à la mort. Pas de transmission interhumaine
Retroviridae					
HTLV1	Paraparésie spastique tropicale	Leucémie à cellules T de l'adulte, asymptomatique (90 à 99 %)	Non	3 semaines à 15 ans	Toute la vie
VIH	SIDA	Méningo-encéphalite, asymptomatique	Non	2 à 6 mois (nourrissons) 4 à 15 ans (adultes)	Toute la vie

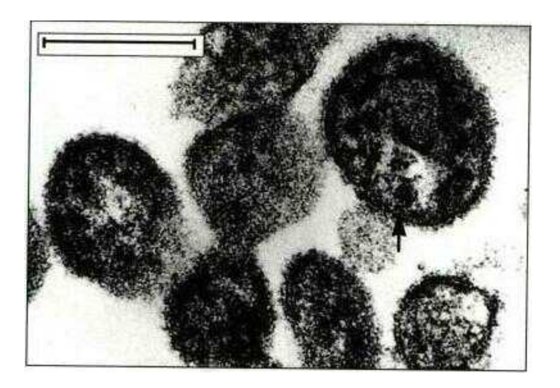
Infections par les virus à ARN enveloppés *(suite)*

	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Transmission et, durée d'infectivité
Arenaviridae					
CML	Syndrome fébrile	Méningite aseptique Asymptomatique (95 %)	Non	7 à 21 jours	?
Lassa, Junin, Machupo, Sabia	Fièvres hémorragiques	Syndrome grippal Asymptomatique (20-30 %)	Non	10 à 11 jours	?
Bunyaviridae					
Bunyamwera	Encéphalites	Myalgies, fièvres	Non	3 à 7 jours	Moustique
Phlébovirus	Fièvre à phlébotomes, encéphalites	Asymptomatique (25 %)	Non	3 à 7 jours	Moustique ou phlébotome
Nairovirus	Fièvre hémorragiques	Syndrome grippal	Non	3 à 12 jours	Tique
Hantavirus	Fièvres hémorragiques, pneumopathies, (néphropathies, *NdT*)	Asymptomatique (30-95 %)	Non	1 à 6 semaines	Pas de transmission interhumaine
Influenza	Grippe	Encéphalite	Oui	1 à 3 jours	1 à 2 semaines
Paramyxoviridae					
Parainfluenza	Laryngo-trachéobronchites	Laryngite (nourrisson)	Non	1 à 3 jours	1 à 2 semaines
Oreillons	Parotidite	Méningite aseptique	Oui	12 à 25 jours	7 jours avant et 15 jours après la parotidite
Rougeole	Exanthème aigu	Pneumonie, encéphalite	Oui	10 à 14 jours	4 jours avant l'éruption jusqu'à la desquamation
Virus respiratoire syncytial	Bronchiolite	Pneumopathies	Non	3 à 7 jours	2 à 3 semaines
Filoviridae					
Marburg, Ebola	Fièvres hémorragiques (mortalité 90 %)	—	Non	7 à 9 jours	4 à 5 semaines

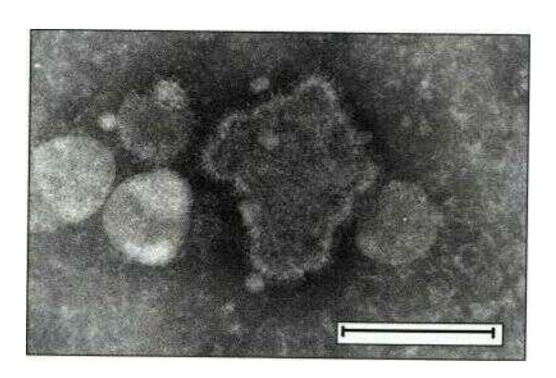
30 Infections à virus enveloppés à ARN.



31 Microphotographie électronique en coloration négative d'un Togavirus. La particule sphérique enveloppée a un diamètre de 60 à 70 nm, avec des spicules glycoprotéiques à sa surface. La nucléocapside est icosaédrique (25 à 35 nm de diamètre). Le génome est simple brin, à polarité positive (12 kb). *(barre = 70 nm)*



32 Microphotographie électronique d'une coupe mince d'un Arénavirus. Virus à ARN enveloppé, sphérique, avec un génome essentiellement positif. Les granules denses aux électrons (flèche) sont riches en ARN et ressemblent à des ribosomes. *(barre = 200 nm)*



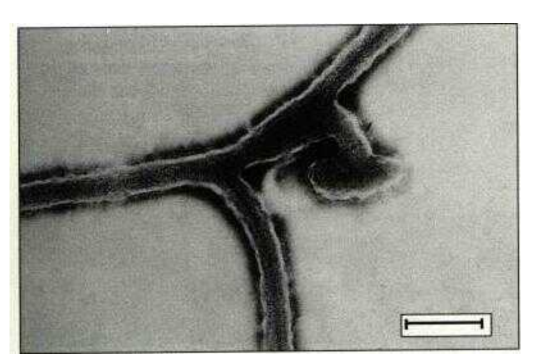
33 Microphotographie électronique en coloration négative d'un virus Puumala. C'est un Hantavirus de la famille des *Bunyaviridae.* Ces virus sont enveloppés, avec un génome ARN ambisens dans une capside à symétrie cubique. L'enveloppe a un aspect de mosaïque, *(barre = 100 nm)*

enveloppés (33), à nucléocapside de symétrie cubique. Leur génome à ARN est composé de trois segments linéaires, à polarité surtout négative bien qu'en partie ambisens. Les virus Bunyamwera se rencontrent dans le monde entier, sont transmis par des moustiques et peuvent causer des encéphalites (ex. La Crosse), des myalgies fébriles (ex. Guama), ou une fièvre sans point d'appel (ex. Tahnya). On distingue environ 45 Phlébovirus, mais tous ne sont pas pathogènes pour l'homme. La fièvre à phlébotomes est transmise par ces insectes et consiste en une affection fébrile avec céphalée, photophobie et douleurs articulaires. La maladie est spontanément résolutive avec guérison complète, aucun décès n'ayant été rapporté. Les Nairovirus sont transmis par des tiques; la principale infection est la fièvre hémorragique de Crimée-Congo, dont la transmission peut être aussi interhumaine. Enfin, les Hantavirus infectent de façon persistante diverses espèces animales (surtout des rongeurs), et sont excrétés dans leur urine et leur salive. Il existe deux syndromes cliniques distincts. Les fièvres hémorragiques avec syndrome rénal (FHSR) ont une répartition mondiale. Les formes sévères surviennent en Extrême-Orient (Hantaan) et dans les Balkans (Fojnica, Porogia), les formes modérées (Séoul) dans le monde entier, et les formes bénignes dues au virus Puumala dans le nord de l'Europe (néphropathie épidémique). Le syndrome pulmonaire à Hantavirus récemment décrit est dû au virus de Muerto Canyon; plusieurs cas grevés d'une forte mortalité (environ 60%) sont survenus à travers toute l'Amérique du Nord.

Le diagnostic de ces infections repose sur la sérologie, la détection d'antigènes, la culture ou la RT-PCR. Il est nécessaire de disposer d'installations confinées spéciales, de haute sécurité biologique.

FILOVIRIDAE

Ce sont des virus enveloppés à nucléocapside hélicoïdale. Ils forment des structures en bâtonnet, voire des filaments ramifiés (34) pouvant atteindre. 14 mm de long pour un dia-



34 Microphotographie électronique en coloration négative du virus Ebola, de la famille des *Filoviridae.* Il s'agit d'un virus à ARN, enveloppé, filamenteux, parfois ramifié, à symétrie hélicoïdale. *(barre = 200 nmj*

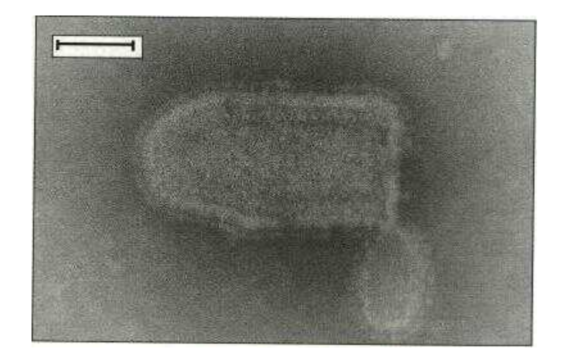
mètre de 80 nm. Ils sont à l'origine de fièvres hémorragiques très souvent mortelles (90% des cas). La transmission est animale, mais parfois inter-humaine par des sécrétions (salive, expectorations) ou par le sang. Des singes peuvent transmettre l'infection à l'homme, et le premier cas décrit chez l'homme en Allemagne (Marburg, 1967) le fut de cette façon. Cependant, le réservoir primaire de l'infection est mal connu. Depuis 1976, trois épidémies sont survenues, dans le nord du Zaïre (Ébola), le sud du Soudan, et récemment dans le centre du Zaïre (1995).

RHABDOVIRIDAE

Le virus de la rage est le plus grand pathogène humain. C'est un virus en forme de balle de revolver, enveloppé, avec une nucléocapside hélicoïdale (35). Son génome est composé d'ARN simple brin, à polarité négative (13 à 16 kb). Il appartient au genre des Lyssavirus (du grec *iyssa*, signifiant rage). La rage est une zoonose. Le risque majeur de transmission provient des chiens adultes non vaccinés. Linfection peut aussi être transmise par les chauves-souris vampires, les renards, les chats, les ratons laveurs et les chacals. La contamination se fait en général par morsure, mais peut aussi résulter de l'inoculation de salive dans des plaies ouvertes, ou même d'un passage à travers les muqueuses. Le virus monte au cerveau *via* les nerfs périphériques. La période d'incubation varie selon la distance entre le point d'inoculation et le cerveau, de 9 jours jusqu'à aussi loin que 3 ans.

CORONAVIRIDAE

Les Coronavirus sont des virus pléiomorphes, enveloppés, de symétrie hélicoïdale, avec des spicules glycoprotéiques de surface en forme de massue (36). On distingue deux



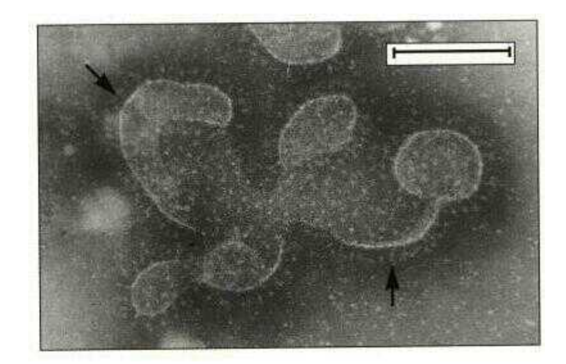
35 Microphotographie électronique en coloration négative du virus de la rage. C'est un virus hélicoïdal enveloppé, à ARN négatif. Il a la forme d'une balle de revolver. *{barre = 50 nm}*

groupes de souches antigéniquement apparentées de Coronavirus humains. Les Coronavirus sont une cause du rhume banal, et sont responsables de 5 à 15% des cas d'infection respiratoire haute chez l'adulte et l'enfant. Ils sont également impliqués dans certaines diarrhées.

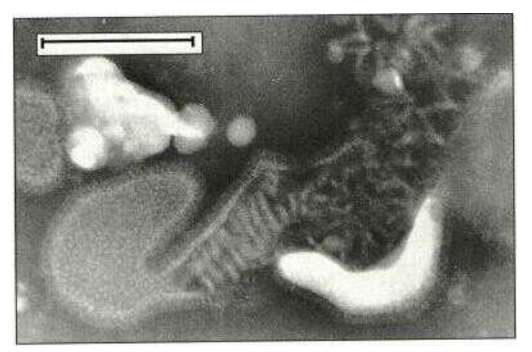
ORTHOMYXOVIRIDAE

Les virus influenza, agents de la grippe, sont des virus enveloppés à ARN avec une nucléocapside hélicoïdale et un génome linéaire, simple brin, segmenté, à polarité négative (37). On distingue trois types de virus influenza (A, B et C), selon la nature antigénique de la capside protéique.

Il existe une bordure de spicules glycoprotéiques à la surface de ces virus qui mtervient dans l'attachement et la pénétration dans la cellule hôte (hémagglutinine), et la libération des particules virales (neuraminidase). Les anticorps dirigés contre ces spicules

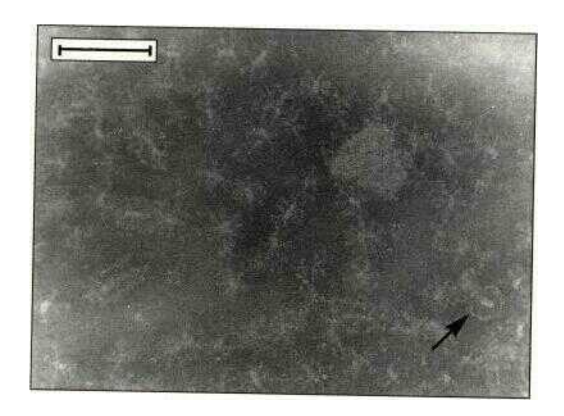


36 Microphotographie électronique en coloration négative d'un Coronavirus. C'est un virus hélicoïdal enveloppé, à ARN négatif, d'aspect pléiomorphe. Remarquer les spicules glycoprotéiques caractéristiques en forme de massue (flèches), *(barre* = 50 *nm)*

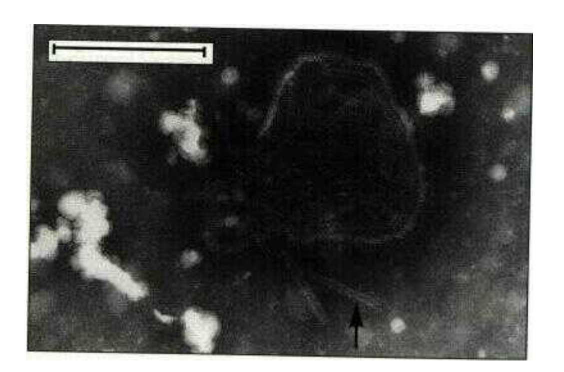


37 Microphotographie électronique en coloration négative du virus de la grippe. C'est un virus hélicoïdal enveloppé, à ARN négatif linéaire segmenté. Il possède deux types de spicules glycoprotéiques à sa surface, responsables des activités hémagglutinine (HA) et neurominidase (NA). *(barre = 100 nm)*

confèrent une immunité protectrice, et l'on produit des vaccins composés de spicules d'hémagglutinine et de neuraminidase purifiées (**38**). Malheureusement, la structure antigénique des hémagglutinines (HA), et dans une moindre mesure des neuraminidases (NA) du virus Influenza A peut varier. Cette variation peut survenir de deux façons : par glissement ou par cassure antigénique. Le glissement antigénique est un changement lent qui correspond à l'accumulation progressive de substitutions nucléotidiques dans le gène de l'hémagglutinine; il en résulte une variation annuelle d'environ 1% dans la composition de HA en acides aminés. Cette variation est la cause des épidémies de grippe qui affectent chaque hiver une partie de la population. La cassure antigénique est un changement majeur résultant de recombinaisons entre différents virus de la grippe. Elle entraîne l'apparition d'un virus doté d'un « nouvel » antigène HA, et d'une pandémie mondiale.



38 Microphotographie électronique en coloration négative des glycoprotéines hémagglutinine (HA) et neuraminidase (NA). Celles-ci ont été préparées à partir de virus entiers, par solubilisation de l'enveloppe et séparation de la nudéocapside par centrifugation. HA prend un aspect étoile, et NA une forme en roue de charette (flèche). Elles sont utilisées comme fractions vaccinales en prévention de la grippe, *(barre = 50 nmj*



39 Microphotographie électronique en coloration négative du virus de la rougeole (Paramyxovirus). L'enveloppe lipidique a éclaté, permettant de voir l'aspect caractéristique en chevrons (flèche) de la nudéocapside hélicoïdale. *(barre = 100 nm)*

PARAMYXOVIRIDÀE

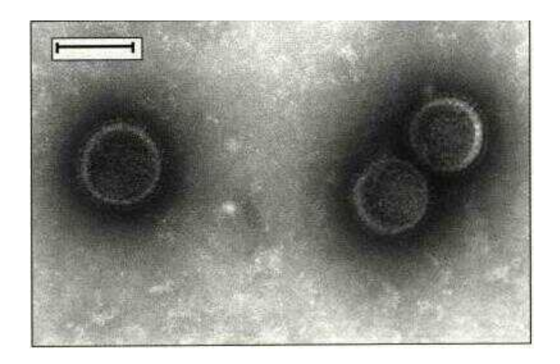
Les *Paramyxoviridae* sont aussi des virus enveloppés avec une nudéocapside hélicoïdale (39). Ils diffèrent des Orthomyxovirus par un ARN génomique non segmenté. On distingue trois genres principaux qui sont pathogènes pour l'homme, à savoir les Parainfluenzavirus, Morbillivirus et Pneumovirus. Les Parainfluenzavirus (1, 2, 3, 4a, 4b) sont responsables d'infections respiratoires, y compris de laryngites du nourrisson. Un autre membre du genre, le virus des oreillons, est responsable d'une infection aiguë de l'enfance, caractérisée par une parotidite, et parfois une orchite, une pancréatite et une méningite aseptique.

Le virus de la rougeole est le Morbillivirus humain; le virus de la maladie de Carré infecte les chiens et celui de la peste des petits ruminants infecte le bétail. La rougeole est un exanthème aigu de l'enfance, dont les effets sont désastreux dans les pays en voie de développement. Le diagnostic des infections à Ortho- et Paramyxovirus peut être réalisé par immunofluorescence directe, culture virale, RT-PCR, ou sérologie.

RETROVIRIDAE

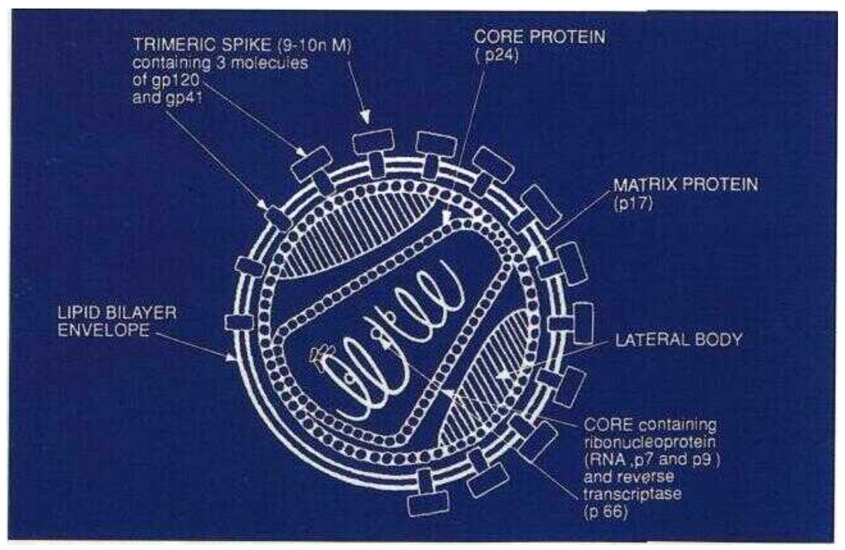
II s'agit d'une grande famille de virus enveloppés à nudéocapside cubique (40). Chaque nudéocapside contient deux copies du génome d'ARN linéaire, simple brin, à polarité positive (3,5 à 9 kb). Ces virus ont la capacité de faire revenir (en grec *rétros* signifie en arrière) leur génome d'ARN à un provirus à ADN double brin qui devient, alors, partie intégrante du génome de la cellule hôte. Ceci est dû aux produits des gènes **de** la région *pol* (41), notamment une transcriptase inverse, une endonudéase et une intégrase.

Il y a trois sous-familles principales de *Retroviridae*. Les Spumavirus provoquent une intense vacuolisation des cellules infectées, ressemblant à de la mousse (du grec



40 Microphotographie électronique en coloration négative du virus de l'immunodéficience humaine (Rétrovirus). Les spicules glycoprotéiques (composées de trois molécules de gp120 et de gp41) sont visibles à la surface. Le virus possède une nudéocapside cubique contenant deux copies du génome ARN simple brin à polarité positive, *(barre = 100nm)*

41 Transcription inverse du génome du VIH en ADN proviral, qui est intégré au chromosome de la cellule hôte.



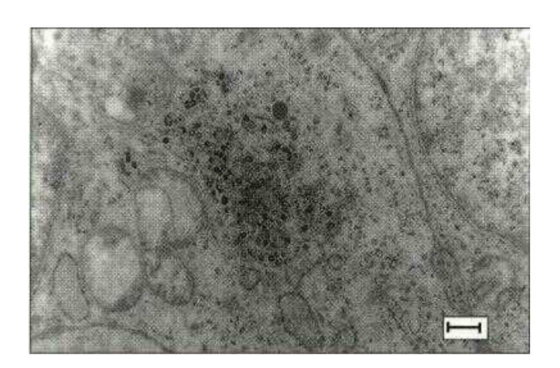
42 Diagramme de la structure et des polypeptides du VIH.

spuma qui signifie écume) Aucune association à une maladie n'a pu être démontrée Les Lentivirus ont une longue période d'incubation (du latin *lentus,* lent) Les principaux agents pathogènes pour l'homme sont les virus de 1 immunodéficience (VIH) 1 et 2, qui peuvent tous deux entraîner le développement d'un syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) Le virus VIH-1 s attache aux cellules exprimant son récepteur (l'antigène CD4), et pénètre à l'intérieur de celles ci grâce à ses spicules glycoprotéiques de surface (42) Ces spicules sont constituées de deux glycoprotéines (gp41 et gpl20), codées par la région *env* du génome La capside et les protéines de la matrice (ex p24 et pl7, respectivement) sont codées par la région *gag* (.group spécifie antigen)

Les Oncovirus sont une sous famille encore mal définie et comprennent quatre sous-groupes morphologiques distincts Cette classification repose essentiellement sur l'aspect de coupes cellulaires en microscopie électronique (43) Les particules de type A, de 60 à 90 nm de diamètre, sont intracellulaires Les particules de type B s'observent à la suite du bourgeonnement d'une capside préformée à travers la membrane cytoplasmique Elles mesurent de 125 à 130 nm de diamètre, et possèdent un noyau excentré dense aux électrons Le virus de la tumeur mammaire de la souris est caractéristique de ce groupe Les particules de type C ont une nucléocapside qui s'assemble au niveau de la membrane cytoplasmique au moment du bourgeonnement, mesurent de 80 à 120 nm de diamètre, et contiennent une partie centrale dense aux électrons Les Oncovirus de type C comprennent les virus des leucémies munne, féline et simienne Les particules de type D ont un centre en forme de barreau caractéristique à l'intérieur d'une enveloppe dépourvue de bordure en surface Le virus de la leucémie humaine à cellules T (HTLV-1) est un virus de type C, responsable chez l'homme de la paraparésie spastique tropicale et de leucémie à cellule T de l'adulte.

VIRUS A ADN

Les infections causées par les virus à ADN sont recensées dans le tableau **44.**



43 Microphotographie électronique d'une coupe mince de nucléocapsides intracellulaires d'Oncovirus de type B.
(barre = 200 nm)

Infections par les virus à ADN

	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Parvovirus	Mégalérythème épidémique (5e maladie)	Arthralgies, crises aplasiques, anasarque fœto-placentaire	Non	18 à 21 jours	5 jours (8 à 10 jours après l'infection dans le sang)
Papovaviridae					
Polyomavirus (JC, BK)	Asymptomatique	Leucoencéphalite multifocale progressive (JC)	Non	?	Toute la vie
Papillomavirus	Verrues (peau et muqueuses), carcinome cervical, anal, rectal	—	Non	1 à 20 mois	Jusqu'à ablation de la verrue
Hépatite B	Hépatite aiguë ou chronique Carcinome hépatocellulaire	Asymptomatique (50-60 %)	Oui	2 à 6 mois	Toute la vie (formes chroniques)
Adenoviridae (41 sérotypes)	Infections respiratoires hautes (1 à 5, 7, 14, 21) Pneumopathies (3, 4, 7b, 14, 21) Kératoconjonctivite (18, 19) Fièvre pharyngoconjonctivale (3, 7) Diarrhées (40, 41)	Syndrome coquelucheux (1, 2, 3, 5) Cystite (1, 4, 7, 11, 21 Asymptomatique (jusqu'à 50 %)	Non	5 à 10 jours	Jusqu'à 3 ans
Herpesviridae					
HHV-1	« Bouton de fièvre »	Encéphalite	Non		Jusqu'à formation d'une croûte et récurrences à vie
HHV-2	Herpès génital	Encéphalite	Non		Jusqu'à formation d'une croûte et récurrences à vie
HHV-3 (VZV)	Varicelle, zona	Pneumopathie, encéphalite	Oui	14 à 21 jours	4 jours avant la varicelle et jusqu'à formation d'une croûte
HHV-4 (EBV)	Mononucléose infectieuse	Asymptomatique (80-90 %)	Non	14 à 28 jours	Toute la vie
HHV-5 (CMV)	Infection respiratoire haute	Asymptomatique (90-95 %) pneumopathie, maladie congénitale	Non	14 à 28 jours	Toute la vie
HHV-6	Exanthème subit (4e maladie)	Asymptomatique (80-90 %)	Non	5 à 15 jours	Toute la vie
HHV-7	Exanthème subit (4e maladie)	?	Non	?	?
HHV-8	?	Sarcome de Kaposi	Non	?	?
Poxviridae *					
Cowpox	Lésions cutanées		Non	6 à 10 jours	Jusqu'à formation d'une croûte
Orf	Nodules du trayeur	Encéphalite	Non	3 à 7 jours	Jusqu'à formation d'une croûte
Molluscum contagiosum	Lésions cutanées		Non	2 à 7 semaines	Jusqu'à guérison

44 Infections à virus à ADN.

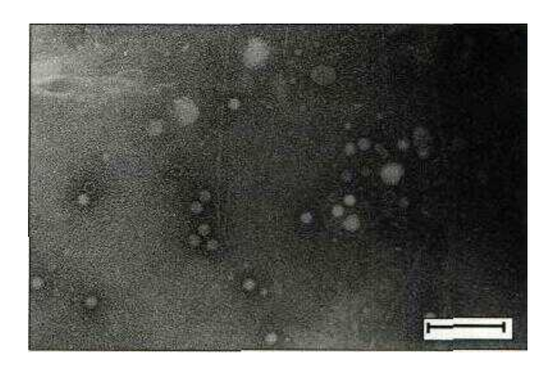
PARVOVIRIDAE

Ce sont les plus petits des virus (18 à 21 nm). Ils sont nus et ont un génome linéaire simple brin de 5 kb, à polarité en général négative (45). Le Parvovirus B19 est pathogène pour l'homme. 11 est responsable chez l'enfant d'une maladie fébrile appelée mégalérythème épidémique ou cinquième maladie. Chez l'adulte, il peut aussi être à l'origine d'arthrite au long cours. Ce virus infecte particulièrement les cellules médullaires précurseurs de la lignée érythrocytaire (l'antigène de groupe sanguin P est le récepteur du virus). Chez les patients souffrant d'anémie hémolytique (ex. sphérocytose héréditaire ou thalassémie), l'infection peut entraîner des aplasies au cours desquelles le taux sanguin d'hémoglobine peut chuter rapidement. Les Parvovirus peuvent aussi passer la barrière placentaire pour infecter le fœtus, provoquant des accouchements prématurés, des avortement ou même des anasarques fœto-placentaires dans 5 à 7% des cas Le diagnostic repose sur la détection du génome viral ou la mise en évidence d'IgM anti-Parvovirus.

PAPOVAVIRIDAE

On distingue deux sous-familles chez les *Papovaviridae.* Les Polyomavirus (JC et BK) causent rarement des maladies chez l'homme. Tous deux sont excrétés de façon persistante, dans les urines surtout, après l'infection initiale. Le virus JC peut entraîner une infection neurologique sévère (leucoencéphalopathie multifocale progressive), chez des patients immunodéprimés.

Les Papillomavirus humains (HPV) forment un grand groupe de virus à ADN, nus, à symétrie cubique (46). Ils ont un génome circulaire double brin d'environ 8 000 paires de bases (8 kpb). Ils sont difficiles à cultiver, car ils requièrent des cellules cutanées différenciées pour se répliquer. Ils sont divisés en plus de 60 génotypes selon leur séquence

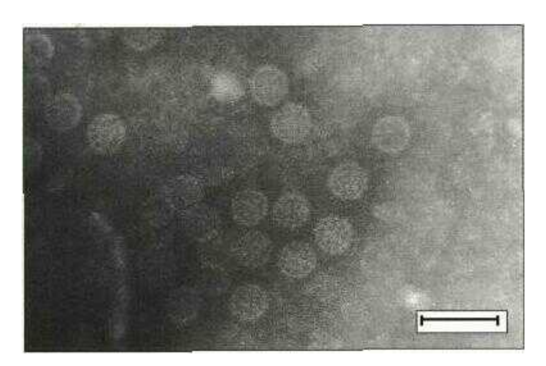


45 Microphotographie électronique en coloration négative du Parvovirus B19. Virus nu, cubique, avec un génome ADN simple brin. Il est responsable de la cinquième maladie, *(barre = 100 nmj*

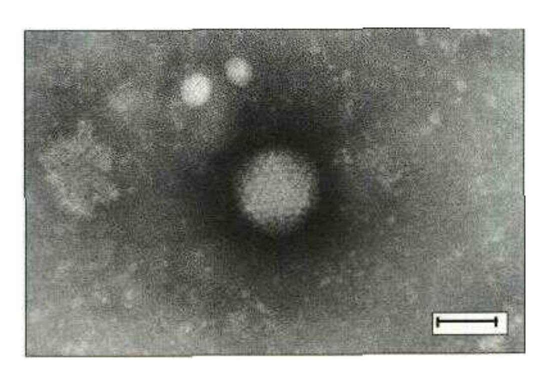
nucléotidique. Ils sont responsables de verrues (ex. HPV1) et de condylomes génitaux (ex. HPV12). Il existe une relation entre certains types de HPV (ex. HPV16, HPV18 et HPV33) et le carcinome du col de l'utérus.

ADENOVIRIDÀE

Ce sont des virus nus icosaédriques (47), possédant un génome d'ADN double brin linéaire de 36 à 38 kpb. Il existe environ 42 sérotypes d'Adénovirus. Les sérotypes sont associés à différentes infections, parfois asymptomatiques, comme avec les Entérovirus. Jusqu'à 10 % des pneumonies de l'enfant seraient dues aux Adénovirus de types 1, 2, 3, 5



46 Microphotographie électronique en coloration négative d'un Papillomavirus. Virus nu, cubique, avec un génome circulaire d'ADN double brin. Il existe plus de 60 génotypes de Papillomavirus humains, *(barre* = ÎOO *nmj*



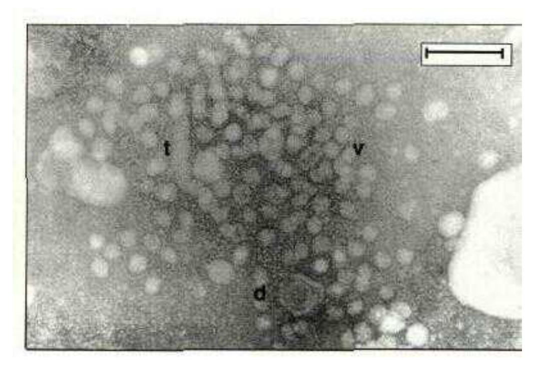
47 Microphotographie électronique en coloration négative d'un Adénovirus. C'est un virus nu, avec un génome ADN double brin. La capside est formée de 20 facettes triangulaires, chacune constituée de capsomères globuleux. *(barre = 50 nm)*

et 7; d'autres sérotypes peuvent provoquer des syndromes de type coquelucheux. Les sérotypes 40 et 41 sont responsables de diarrhées aiguës. La pharyngoconjonctivite fébrile est due aux sérotypes 3 et 7a, et la kératoconjonctivite épidémique aux sérotypes. 3, 4, 7 et 8. Le diagnostic peut être porté par culture, détection d'antigène viral (sérotypes 40 et 41) ou sérologie.

HEPADNAVIRIDAE

Le virus de l'hépatite B (HBV) est un petit virus enveloppé (42 nm) à nucléocapside icosaédrique (48). Son génome d'ADN (3,2 kpb) est double brin, l'un des brins formant une boucle complète et le brin complémentaire une boucle partielle. Le virus HBV est l'un des agents d'hépatite acquise par voie parentérale. La période d'incubation est longue (2 à 6 mois).

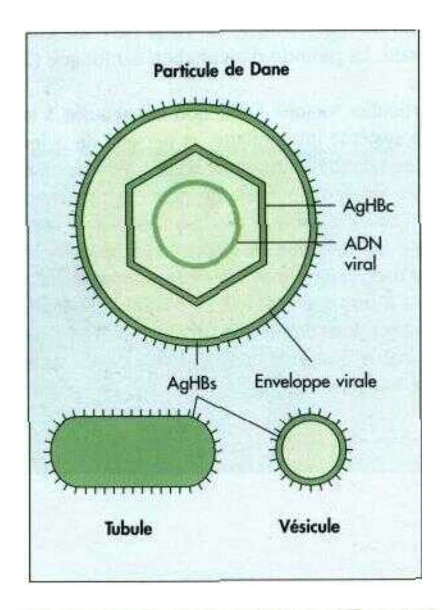
Chez un certain nombre de patients (en particulier lorsque l'infection est acquise à la naissance), l'infection n'est pas éliminée par le système immunitaire, et persiste dans les hépatocytes. Cette persistance peut entraîner une hépatite chronique, voire un carcinome hépatocellulaire. Les patients infectés de façon aiguë ou persistante peuvent présenter des virions circulants complets (particules de Dane), ainsi que des tubules et des vésicules contenant l'antigène de surface HBs (49). La détection de l'antigène HBs dans le sang d'un patient ne présentant pas d'hépatite aiguë signe une infection persistante. La présence de l'antigène HBe signale des patients à risque élevé de transmettre l'infection, même avec un petit volume de sang, par exemple lors d'une blessure par piqûre d'aiguille. Si un donneur est HBe-négatif, il est probable que seul un grand volume de sang pourra transmettre l'infection (par exemple une transfusion sanguine).



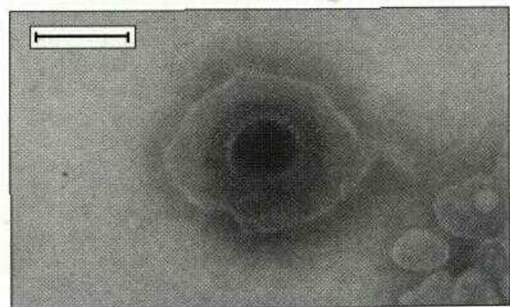
48 Microphotographie électronique en coloration négative du plasma d'un patient atteint d'infection aiguë par le virus de l'hépatite B. Les particules virales entières (particules de Dane, d) ont une enveloppe lipidique et une nucléocapside cubique contenant le génome en boucle d'ADN double brin. Les tubules (t) et les vésicules (v) sont constituées seulement de lipides de l'enveloppe virale, *(barre = 100nml*

HERPESVIRIDAE

Les Herpèsvirus forment une grande famille de virus enveloppés à nucléocapside icosaédrique (50). Ils possèdent un génome linéaire double brin (120 à 200 kpb). On connaît à l'heure actuelle huit Herpèsvirus humains (HHV-1 à HHV-8), qui, après une transmission initiale, entraînent une infection latente ou persistante. Le virus herpès simplex de type 1 (HHV-1) reste latent dans le ganglion du nerf trijumeau et peut être réactivé, produisant une poussée de bouton de fièvre. Le virus herpès simplex de type 2 (HHV-2) est l'agent de l'herpès génital. Le virus varicella-zoster (VZV, HHV-3) est l'agent de la varicelle et sa



49 Diagramme des différents antigènes du virus de l'hépatite B.

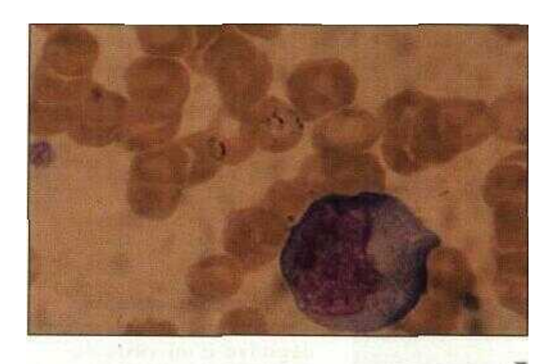


50 Microphotographie électronique en coloration négative d'un virus herpès simplex. Virus enveloppé, à capside cubique, et génome d'ADN linéaire double brin. Il existe huit types différents d'Herpèsvirus humains. *(barre = 100nm)*

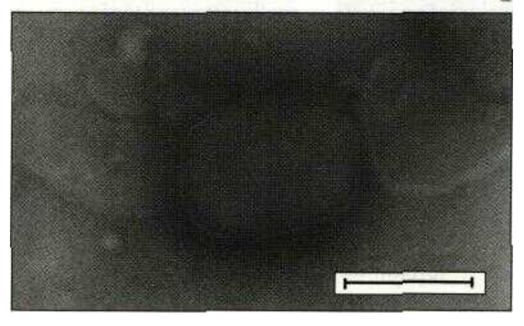
réactivation produit le zona. Le virus Epstein-Barr (EBV), aussi appelé HHV-4, est l'agent de la mononucléose infectieuse, au cours de laquelle l'examen de frottis du sang périphérique révèle la présence de grandes cellules irrégulières mononucléées (51). Ce sont des lymphocytes T activés pour éliminer les lymphocytes B infectés par l'EBV. Linfection à Cytomégalovirus (HHV-5) est habituellement asymptomatique, mais le virus peut traverser le placenta pour infecter le fœtus. Dans ce cas, il est une cause fréquente d'arriération mentale. HHV-6, et dans une certaine mesure HHV-7, sont la cause de l'exanthème subit du jeune enfant. HHV-8, récemment décrit, est probablement l'agent du sarcome de Kaposi chez les sujets infectés ou non par le VIH.

POXVIRIDAE

Ce sont les plus grands (350 x 400 nm) et les plus complexes des virus. Il peuvent présenter une enveloppe lipidique (52), mais qui n'est pas absolument nécessaire,à l'infecti-

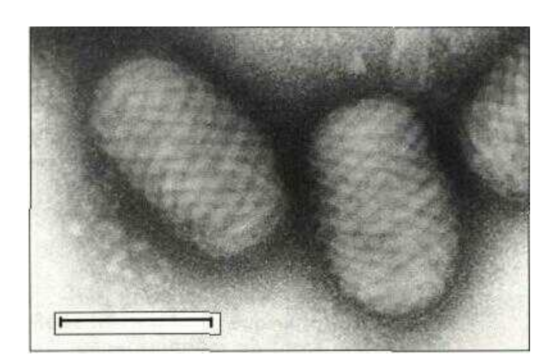


51 Frottis de sang périphérique d'un patient souffrant de mononucléose infectieuse, due au virus Epstein-Barr (HHV-4). Les grandes cellules irrégulières mononucléées sont des lymphocytes T activés.

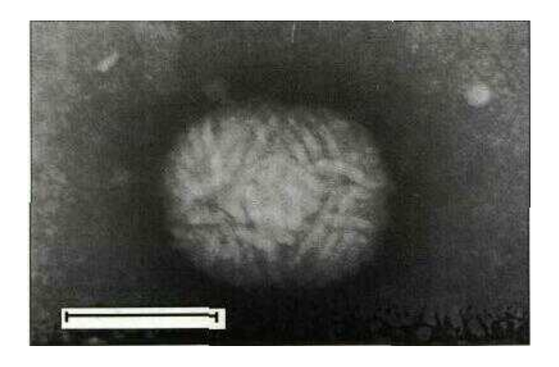


52 Microphotographie électronique en coloration négative du virus de la variole. Bien que l'enveloppe lipidique soit visible, elle n'est pas nécessaire à l'infectivité. *(barre = 300 nm)*

vite. La symétrie de leur capside est complexe, et leur génome linéaire est constitué de deux brins d'ADN (130 à 280 kpb). Les Orthopoxvirus comprennent les virus de la variole (aujourd'hui éradiquée), du cowpox et du monkeypox. Parmi les Parapoxvirus, un seul, orf, est responsable d'infection humaine (53). Le molluscum contagiosum est dû à un Poxvirus encore inclassé, qui n'a pu être cultivé artificiellement. En microscopie électronique, il ressemble à une pelotte de fil (54).



53 Microphotographie électronique en coloration négative de orf, un Parapoxvirus. Virus complexe, dont le génome d'ADN double brin est linéaire. La structure régulière de sa surface est caractéristique des Parapoxvirus. *(barre = 300 nmj*



54 Microphotographie électronique en coloration négative d'un virus du molluscum contagiosum. Ce virus ne peut être maintenu en culture artificielle. Il est décrit comme ressemblant à une pelotte de fil. *(barre = 300 nm)*

VIROLOGIE DIAGNOSTIQUE

Bien que la présence d'une infection virale puisse parfois être déduite de marqueurs non spécifiques, tels qu'une lymphocytose élevée (dans le sang ou le LCR par exemple), le diagnostic précis repose sur le dépistage du virus, d'antigènes viraux, du génome viral, ou encore sur la mise en évidence d'une réponse sérologique au virus (55).

Méthodes diagnostiques en virologie

Méthode	Rapidité	Sensibilité/spécificité
Détection de virus		
Microscopie électronique	*Rapide*	Élevées
Culture[a]	Moyenne (1 à 7 jours)	Élevées
Histologie (inclusions)[a]	Moyenne (1 à 14 jours)	Faibles
Détection d'antigènes viraux[a]		
ELISA	Rapide	Élevées
Agglutination de particules de latex	Rapide	Moyennes
Radio-immunologie (RIA)	Moyenne (1 à 5 jours)	Élevées
Immunofluorescence	Rapide	Élevées
Détection du génome viral		
Électrophorèse en gel de polyacrylamide (ARN)[b]	Moyenne (24 à 36 h)	Élevées
Hybridation génomique	Moyenne (1 à 5 jours)	Moyennes
Amplification génomique (PCR)	Moyenne (24 à 72 h)	Élevées
Détection d'une réponse sérologique		
IgM (ex. virus de l'hépatite A en ELISA)	Rapide	Élevées
Élévation du titre d'anticorps[c] par :		
fixation du complément	Lente	Élevée/moyenne
inhibition d'hémagglutination	Lente	Élevées
neutralisation	Lente	Élevées
agglutination latex	Lente	Moyennes
ELISA	Lente	Élevées
RIA	Lente	Élevées
immunofluorescence	Lente	Élevées

[a] Pour certains virus seulement. [b] Rotavirus et Picobirnavirus.
[c] Nécessite deux sérums à au moins 2 semaines d'intervalle (phase aiguë et convalescence).

55 Méthodes de diagnostic virologique.

DETECTION DES VIRUS

Microscopie électronique en coloration négative

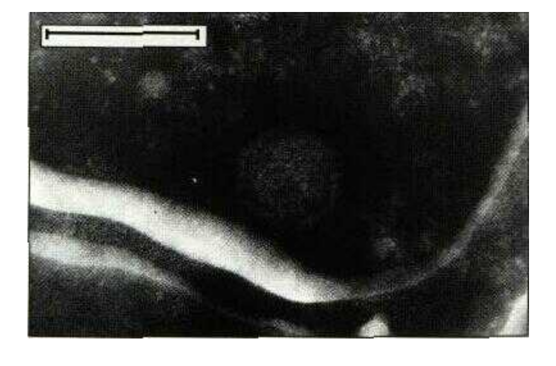
Cette technique fournit un diagnostic rapide et spécifique de la plupart des diarrhées virales, mais a aussi été utilisée pour dépister des infections respiratoires virales (56). Pour que les virus soient visibles, l'échantillon doit contenir au moins *W* particules par ml. La sensibilité et la spécificité peuvent être améliorées par addition d'un antisérum spécifique (immunomicroscopie électronique).

Culture

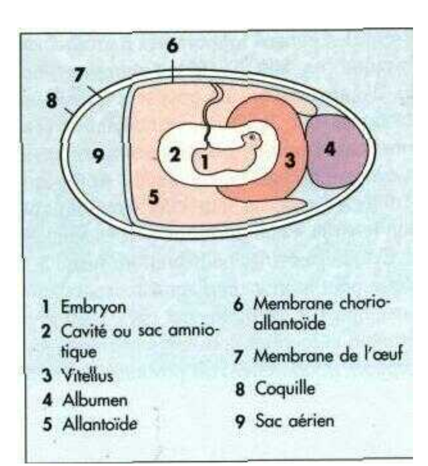
Les virus peuvent être cultivés chez l'animal (ex. souriceau nouveau-né pour les virus Coxsackie B), sur œuf embryonné (ex. virus grippal, Poxvirus), ou sur cultures cellulaires. Les animaux sont aujourd'hui peu utilisés.

Les œufs de poule embryonnés peuvent servir à l'isolement **de nombreux virus,** en utilisant des sites d'inoculation spécifiques pour chacun (57). À titre d'exemple, les virus grippaux sont cultivés dans la cavité amniotique, les Parainfluenzavirus dans l'allantoïde, le virus de l'encéphalite de St Louis sur la membrane vitelline, et les Poxvirus sur la membrane chorio-allantoîde (58). Cependant, on dispose de lignées cellulaires permettant **la** culture de la plupart des virus, et les œufs embryonnés sont de moins en moins employés. En fait, leur principale utilisation est la culture à grande échelle des virus de **la** grippe et de la rougeole, pour la production de vaccins.

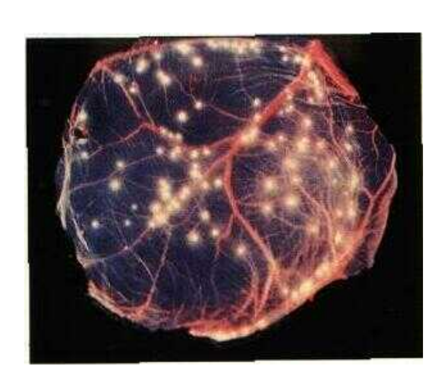
La possibilité de cultiver des cellules humaines ou d'autres mammifères a permis de grands progrès en virologie animale, en fournissant un substrat pratique pour la culture virale. Les cellules mammaliennes peuvent être facilement cultivées dans des flasques de plastique contenant un milieu approprié (59), et croissent en suspension ou en adhérant au plastique du récipient. Les cellules peuvent provenir directement de tissus vivants normaux et sont alors appelées cultures cellulaires primaires. Leur durée de vie est en général limitée. Des cellules transformées, obtenues à partir de tumeurs malignes **ou**



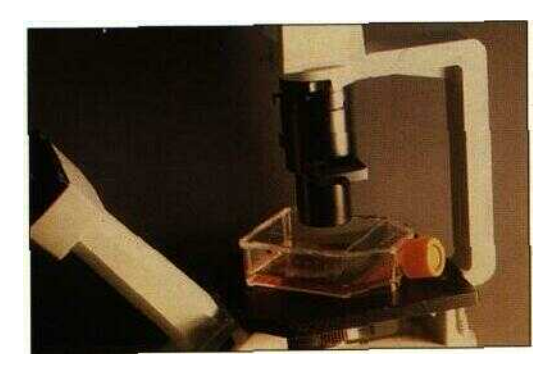
56 Microphotographie électronique directe en coloration négative de sécrétions bronchiques d'un enfant souffrant de bronchiolite obstructive. Un Adénovirus a été cultivé à partir de ce prélèvement, *(barre* = 200 *nm)*



57 Schéma d'un œuf de poule embryonné âgé d'environ 10 jours.



58 Membrane chorio-allantoïde avec des lésions caractéristiques de Poxvirus.



59 Flasques plastiques à usage unique contenant une monocouche de cellules dans un milieu de croissance.

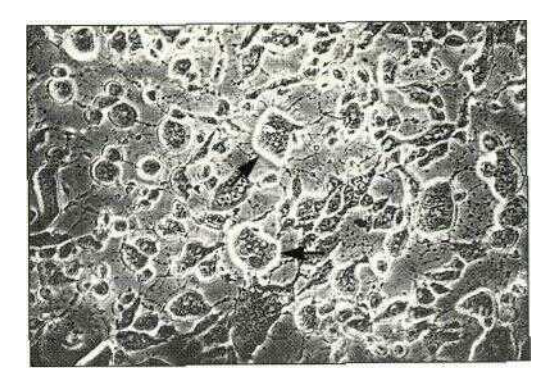
même de cellules transformées *in vitro,* fournissent des lignées immortelles à croissance rapide. Certaines cellules ont un aspect fibroblastique (ex. MRC-5) (60), d'autres ressemblent à des cellules épithéliales (ex. Vero) (61), d'autres encore ne poussent qu'en suspension et dérivent de précurseurs lymphoblastiques (ex. Raji) ou monocytaires (ex. LJ937). Il n'existe pas de lignée universelle permettant la pousse de tous les virus; aussi les laboratoires de virologie maintiennent-ils un éventail de lignées cellulaires. Après inoculation et croissance, les virus peuvent être détectés grâce à leur effet cytopathique (ecp). Le délai d'apparition de celui-ci varie selon le virus. Celui des virus herpès simplex (62) apparaît en 24 heures, alors que celui du Cytomégalovirus peut prendre jusqu'à 5 jours (63). Pour quelques virus, l'effet cytopathique peut fournir un diagnostic spécifique (ex. 62, 63). Pour d'autres (les Entérovirus par exemple), il est moins net (64). Dans certains cas, il n'y a que peu ou pas d'effet cytopathique et le virus doit être caractérisé par d'autres activités biologiques telles qu'hémadsorption, interférence, ou production d'anti-



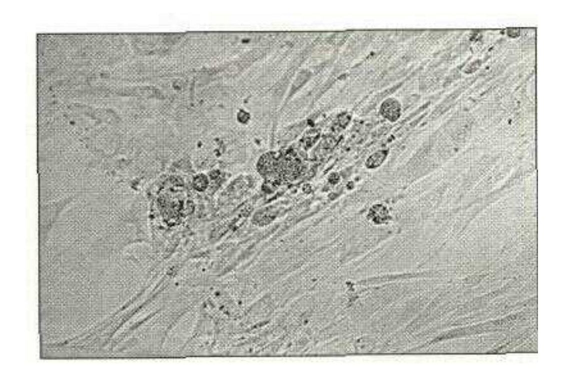
60 Monocouche de fibroblastes pulmonaires d'embryon humain (MRC-5). Les cellules sont fusiformes.



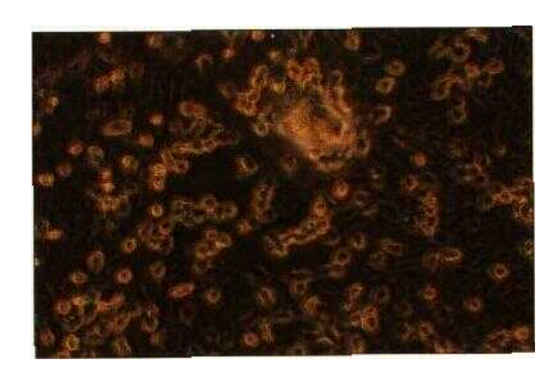
61 Monocouche de cellules de rein de singe vert africain (Vero).



62 Effet cytopathique typique d'un virus herpès simplex sur cellules de rein de singe vert africain (Vero). Les placards (flèches) sont formées de cellules ayant fusionné.



63 Effet cytopathique typique du Cytomégalovirus sur les cellules MRC-5. Les grandes cellules réfringentes sont infectées **par le virus.**

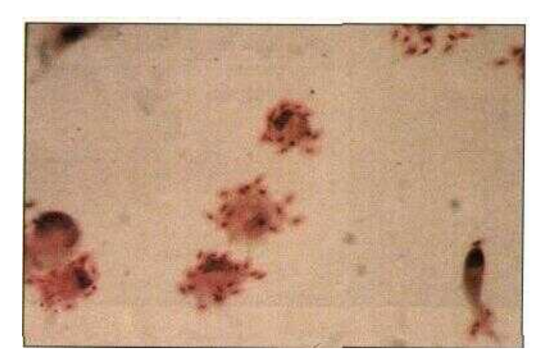


64 Effet cytopathique induit par le Poliovirus sur cellules Vero. Les cellules sont tuées, mais un aspect similaire peut être induit par d'autres virus ou certaines toxines.

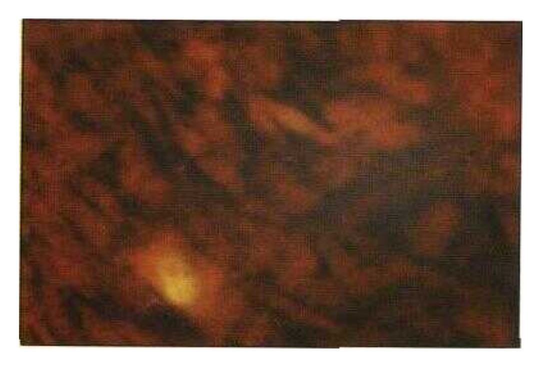
gène. L'hémadsorption (65) survient, par exemple, quand les spicules d'hémagglutinine du virus grippal sont exprimées à la surface des cellules infectées. Lorsque l'on ajoute des hématies, elles adhèrent spécifiquement aux cellules infectées. Un grand nombre de tests immunologiques sont utilisés pour détecter la croissance virale, que ce soit en diagnostic rapide, avant l'apparition de l'ecp (66), ou pour des virus qui n'en produisent pas. Dans la plupart des cas, la croissance virale et l'identification peuvent être confirmées par microscopie électronique en coloration négative du liquide de culture.

Inclusions

II est également possible de détecter les virus dans les tissus, ou même dans les cellules du sang périphérique, soit par la présence d'inclusions, soit par détection d'antigènes viraux. Les inclusions sont des agrégats de particules virales (67), intranucléaires ou intracytoplasmiques, selon le site de réplication et d'assemblage du virus. Le virus de la rage forme des inclusions intracytoplasmiques dans les cellules cérébrales appelées corps de Négn (68). Les Herpèsvirus tels que le virus varicella-zoster (69) ou le Cytomégalovirus (70) forment des inclusions intranucléaires (ainsi, l'infection périnatale à Cytomégalovirus



65 Hémadsorption d'hématies de poulet sur des cellules infectées par le virus de la grippe.

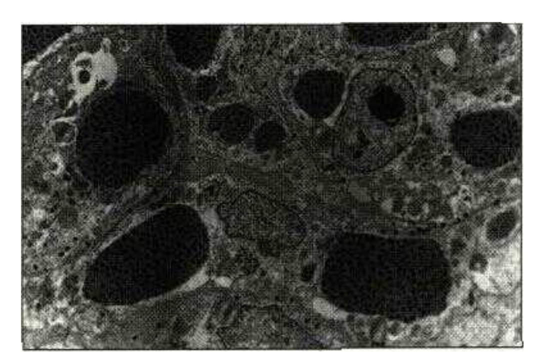


66 Mise en évidence de l'antigène précoce du CMV par immunofluorescence directe. Les cellules MRC-5 infectées par le Cytomégalovirus sont colorées par un anticorps marqué à la fluorescéine dirigé contre l'antigène précoce *(early antigenj* du CMV. Cet antigène apparaît dans les 24 à 48 heures suivant la mise en culture du virus.

est également appelée maladie des inclusions cytomégaliques). Les cellules infectées sont de grande taille et présentent des inclusions intranucléaires caractéristiques en « œil de chouette » (70). On peut mettre les inclusions en évidence par de simples colorations histologiques, mais la sensibilité et la spécificité de cette méthode sont faibles. Elles peuvent être améliorées par l'utilisation d'antisérums spécifiques pour colorer les inclusions, à l'aide, par exemple, d'un marquage des anticorps à la peroxydase ou à la phosphatase alcaline (71).

DÉTECTION DES ANTIGÈNES VIRAUX

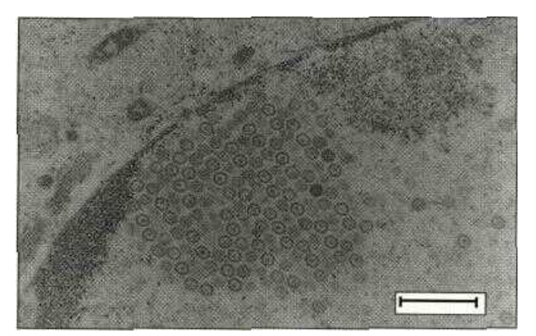
Des antisérums (mono- ou polyclonaux) peuvent être utilisés pour dépister les antigènes viraux dans les liquides biologiques, à partir de cellules exfoliées ou encore dans les leucocytes circulants. De telles méthodes sont souvent très sensibles, car elles détectent les antigènes des fractions virales qui ne sont plus cultivables ni visibles en microscopie électronique. Elles ont cependant l'inconvénient d'être spécifiques d'un seul agent pathogène,



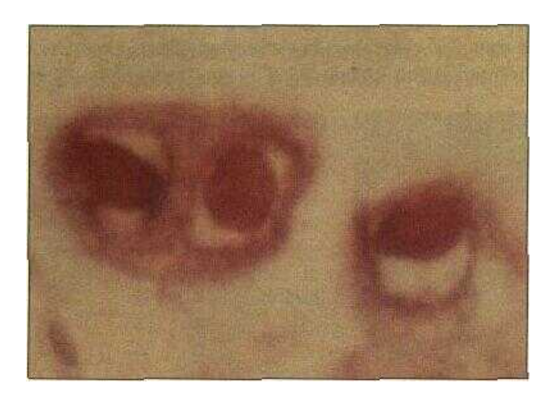
67 Microphotographie électronique d'une coupe mince montrant des inclusions du virus du cowpox. Les inclusions sont intracytoplasmiques et peuvent aussi être vues au microscope optique après coloration de Giemsa.



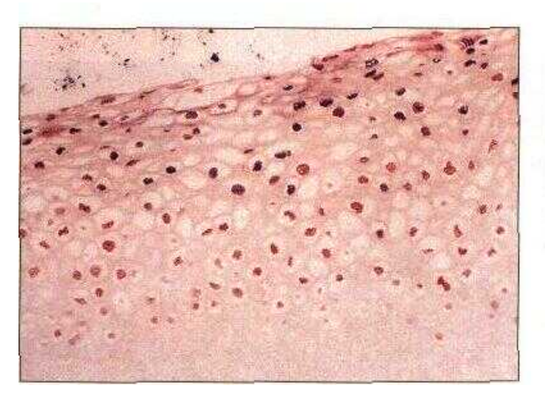
68 Inclusions cytoplasmiques rosés caractéristiques de l'infection par le virus de la rage. On les trouve dans les cellules cérébrales Elles sont appelées corps de Négri.



0 Inclusions nucléaire* de Cytomégalovirus, également visibles en microscopie optique après coloration de Giemsa (voir 70). ***Ibarre = 400 nm)***



'u Aspect typique en « œil de chouette » des cellules infectées contenant des inclusions nucléaires de Cytomégalovirus.

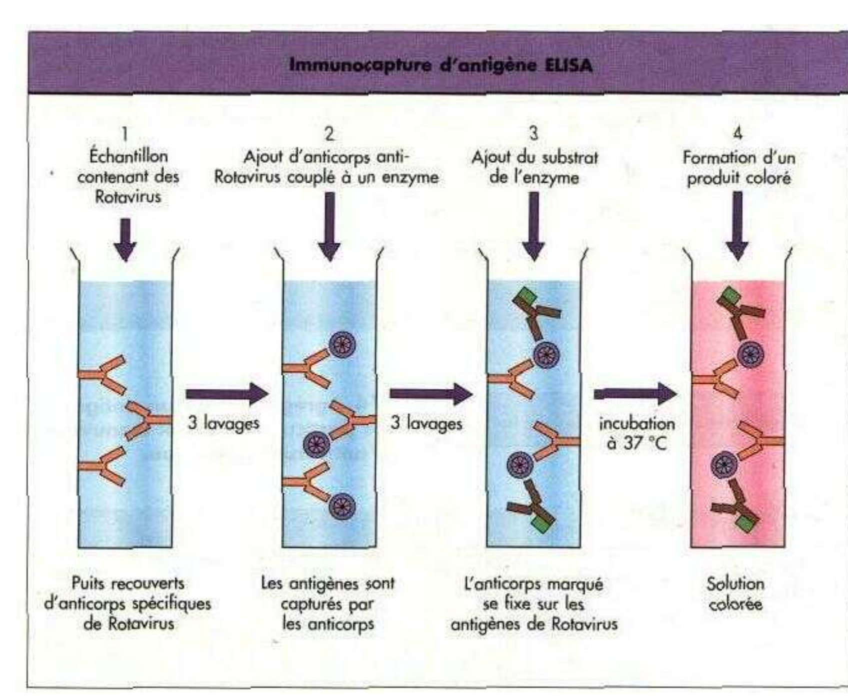


71 Cancer intraépithélial du col utérin, de stade 1. Coloration par la phosphatase alcaline couplée c un anticorps monoclonal anti-Papillomavirus humain (HPV). Les cellules exprimant des antigènes HPV sont colorées en bleu

c'est-à-dire qu'il faut un examen séparé pour chaque pathogène testé, au contraire de la microscopie électronique ou des cultures cellulaires, qui sont des techniques « attrape tout ». Les tests immunologiques varient selon la méthode 'de détection du complexe antigène-anticorps utilisée

ELISA *(enzyme linked immunosorbent cissay)*

On utilise des techniques ELISA par capture d'antigène (72). Ce type de dosage existe pour de nombreux virus entéropathogènes (Rotavirus, Astrovirus, Adénovirus 40/41, agen

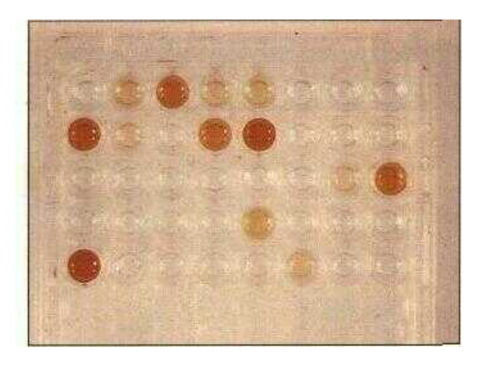


72 Capture d'antigène ELISA. Les puits sont recouverts d'anticorps dirigés contre le virus L'échantillon contenant le virus (1) est mis en contact, et après plusieurs lavages, on ajoute un second anticorps antiviral, couplé à un enzyme (2) Après un autre cycle de lavage, le substrat de l'enzyme (3) est ajouté Une coloration **se** développe si l'antigène viral est présent dans l'échantillon (4)

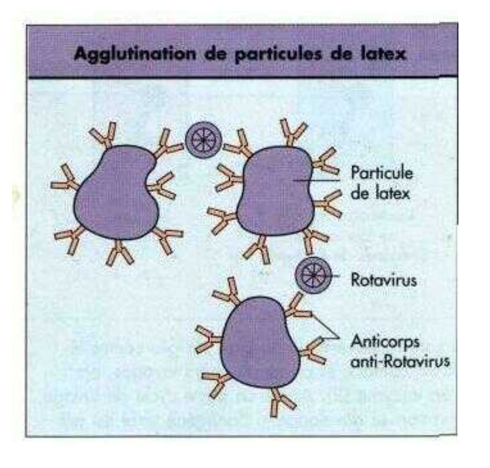
de Norwalk), pour le virus de l'hépatite B (antigènes HBs, HBe, HBc) et le VIH (antigène p24) Dans chaque cas se produit une reaction colorée dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'antigène présent (73).

Agglutination de particules de latex

On utilise de petites particules de latex **recouvertes d'un antisérum spécifique d'un virus** (74). Si ce dernier est présent dans l'échantillon, il se fixe aux particules recouvertes d'anticorps, dissociant la solution lactescente en agrégats visibles à l'œil nu (75). Des tests latex sont disponibles pour le diagnostic des infections à Rotavirus ou à virus respiratoire syncytial. Ces techniques sont en général moins spécifiques et moins sensibles que les **dosages** ELISA.



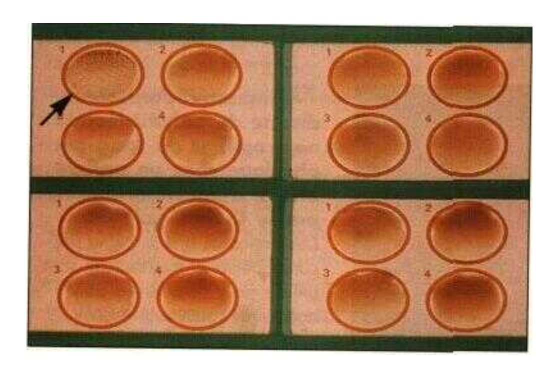
73 Plaque ELISA avec puits positifs (jaune/marron) et négatifs. Dans ce cas, l'enzyme utilisé est la phosphatase alcaline et les anticorps détectés sont ceux dirigés contre le virus de l'hépatite C.



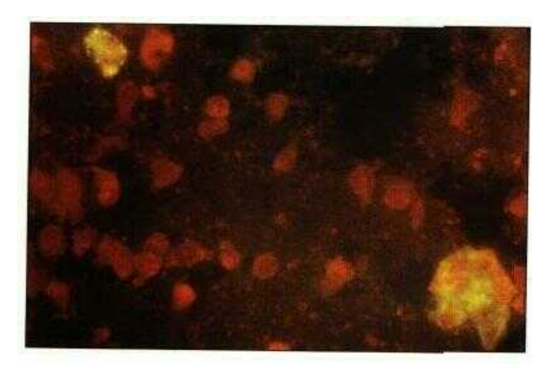
74 Agrégation par un antigène de particules de latex recouvertes d'antisérum spécifique.

Immunofluorescence

L'immunofluorescence, directe ou indirecte, est appliquée à la détection d'antigènes viraux en solution ou dans des cellules. Elle fournit un diagnostic rapide et sensible des infections respiratoires (ex. virus respiratoire syncytial, Parainfluenzavirus, virus de la grippe et de la rougeole). Ces virus infectent les cellules de tout l'arbre respiratoire. Ainsi, des cellules désquamées obtenues par aspiration nasopharyngée sont-elles fixées sur des lames de microscope et colorées avec des antisérums marqués à la fluorescéine, spécifiques de chaque virus, à raison d'un anti-sérum par lame (76). La méthode s'applique également à la détection rapide de la virémie à Cytomégalovirus L'antigène p66 du CMV peut être mis en évidence dans les polynucléaires neutrophiles du sang périphérique (77).



75 Réaction d'agglutination de particules de latex Rotavirus. L'aspect en lait caillé de la suspension indique la présence d'antigène Rotavirus (flèche).



76 Immunofluorescence directe de cellules nasopharyngées d'un enfant atteint de bronchiolite due au virus respiratoire syncytial.

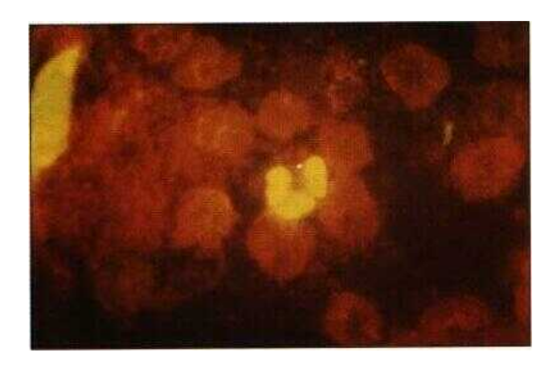
DÉTECTION DU GÉNOME VIRAL

Électrophorèse en gel de polyacryldmide de l'ARN (RNA-PAGE)

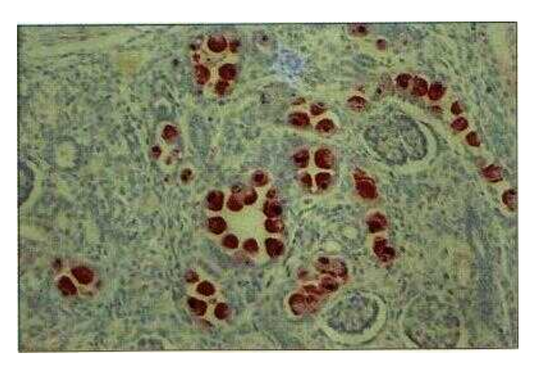
Cette technique n'est appropriée qu'au dépistage direct des Rotavirus (29) ou des Picobirnavirus, et n'est possible qu'en raison d'une excrétion massive dans les selles et de la structure double brin de l'ARN génomique.

Hybridation génomique

Cette méthode repose sur la capacité de l'ARN ou de l'ADN viral à se lier spécifiquement (hybridation) à des brins complémentaires d'ADN (sonde nucléotidique), générés artificiellement, ou à partir du génome viral clone (78). La liaison est détectée grâce au mar-



77 Immunofluorescence directe de polynucléaires neutrophiles du sang périphérique chez un patient atteint d'infection aiguë par le Cytomégalovirus. Des anticorps anti-protéine p66 conjugués à la fluorescéine sont utilisés pour détecter les polynucléaires contenant le CMV.



78 Coupe de rein chez un transplanté rénal infecté par le Cytomégalovirus. La coupe a été colorée par une sonde d'ADN de CMV couplée à la phosphatase alcaline. Les noyaux infectés apparaissent en rouge.

quage radioactif ou enzymatique de la sonde. Le marquage radioactif est révélé sur un film sensible aux rayons X, en général en buvardage *Çdot blot*). Ce mode de détection est très sensible, mais nécessite des temps d'exposition parfois assez longs, et de disposer de radioactivité. L'incorporation d'enzymes tels que peroxydase ou phosphatase alcaline (habituellement, *via* des nucléotides biotinylés) autorise une détection de type ELISA. On peut également hybrider *in **situ des*** coupes histologiques pour dépister l'infection (78, 79).

Amplification enzymatique du génome

Les récents développements de la biologie moléculaire permettent l'amplification de fragments de génome viral à partir des échantillons des patients. Plusieurs méthodes ont été proposées, comme la *Hgase chain reaction* ou le système Q-p. Cependant, la première d'entre elles et la plus souvent employée est la réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Elle consiste tout d'abord en la séparation par la chaleur des deux brins d'ADN contenant la région à amplifier. L'échantillon est alors mélangé avec des amorces (d'environ 20 nucléotides) complémentaires des séquences nucléotidiques flanquant la région à amplifier. Ces amorces sont choisies de façon à être situées aux extrémités d'une séquence de 50 à 1000 bases (80). Lorsque l'ADN se refroidit, les amorces, en excès, se fixent à leur séquence complémentaire sur l'ADN cible, puis des nucléotides sont incorporés séquentiellement par une ADN polymérase thermostable, la *Taq* polymérase; deux copies de l'ADN cible sont alors produites.

Le mélange est chauffé à nouveau pour séparer l'ADN double brin, puis refroidi pour permettre la fixation des amorces et l'incorporation des nucléotides. La *Taq* polymérase (de *Thermus aquaticus)* est utilisée car elle n'est pas dénaturée par les chauffages et



79 Coupe œsophagienne chez un patient sidéen atteint d'cesophagite herpétique (HSV). Cette coupe a été colorée par une sonde d'ADN de HSV couplée à la peroxydase. Les cellules infectées apparaissent en marron.

refroidissements successifs. Après 30 à 80 cycles effectués automatiquement par un thermo-reitérateur (81), l'ADN amplifié peut être détecté par électrophorèse en gel d'agarose (82). 11 est cependant essentiel de vérifier que le fragment amplifié correspond bien

Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

3' 5'

chauffage

ADN polymérase

chauffage et ADN polymérase

5' 3'

fixation des amorces sur les simples brins d'ADN

extension de brins complémentaires à partir des amorces

chauffage

et ADN polymérase

la réaction enzymatique double le nombre de copies à chaque cycle

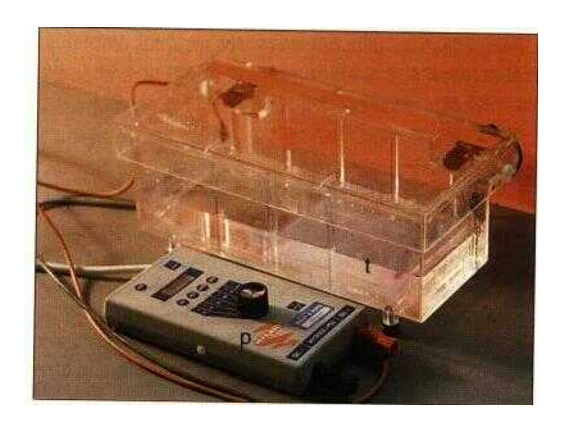
fixation des amorces sur les brins (anciens et néosynthétisés)

80 Réaction d'amplification enzymatique en chaîne (PCR).

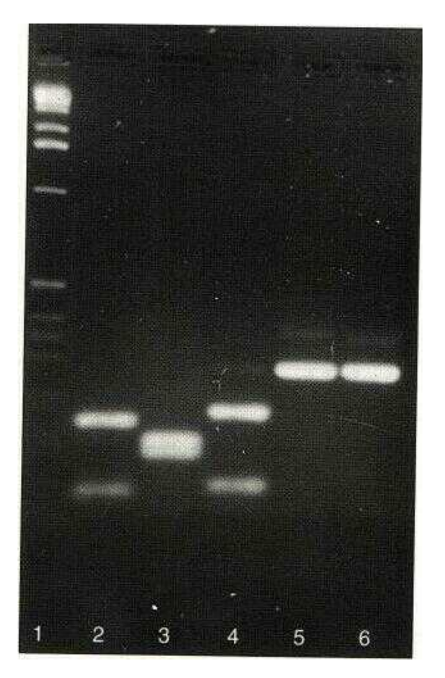


81 Thermo-reitérateur utilisé pour la PCR.

à la séquence cible, soit par digestion par une endonucléase de restriction (83), soit par hybridation avec une sonde ADN. La méthode peut être modifiée pour détecter des virus à ARN, en ajoutant une étape de transcription inverse avant le début de la PCR. En théo-



82 Équipement nécessaire à l'électrophorèse en gel d'agorose des produits de PCR, incluant un générateur (p), et une cuve à électrophorèse (t).

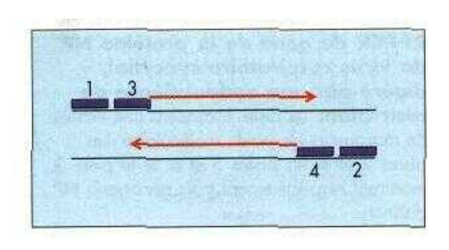


83 Gel d'agarose d'un produit de RT-PCR du gène de la protéine NP du virus respiratoire syncytial, digéré par une endonucléase de restriction. La piste 1 contient une échelle de marqueurs de poids moléculaire. Les pistes 2 et 4, les pistes 5 et *6,* et la piste 3 montrent respectivement trois génotypes NP distincts.

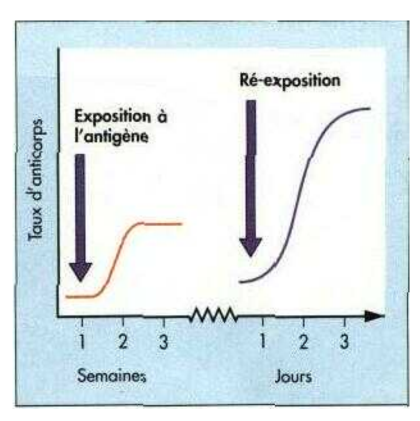
rie, une seule copie du génome viral peut être détectée par échantillon. En pratique, les quantités nécessaires sont plus importantes. L'échantillon peut aussi contenir des inhibiteurs de la réaction qui entraînent des résultats faussement négatifs. La méthode est extrêmement sensible et des faux positifs surviennent lors de contamination de l'échantillon par une cible exogène. C'est pourquoi il est conseillé de disposer de locaux distincts pour la préparation des échantillons, l'amplification, et la détection des produits amplifiés. La sensibilité et la spécificité de la PCR peuvent être améliorées en réalisant une seconde amplification avec des amorces internes au premier fragment (« *nested* PCR ») (84).

DÉTECTION DE LA RÉPONSE SÉROLOGIQUE

À la suite de l'exposition initiale à un antigène (tel qu'un agent pathogène viral ou bactérien), une première réponse anticorps apparaît (85). Elle atteint son niveau maximal en 2 semaines environ, et les anticorps produits sont surtout des IgM. Lors d'une exposition ultérieure, une réponse secondaire se déclenche, beaucoup plus rapide (de l'ordre de 24 à 48 h), produisant de forts taux d'anticorps à haute affinité, principalement IgG (85). Ceci est, bien sûr, le résultat de l'immunisation. Cependant, il résulte de ce qui vient d'être décrit que la sérologie d'une infection virale ne fournit souvent pas de réponse précise avant que le patient ne soit guéri. Des sérums prélevés en phase aiguë (exposition ini-



84 La « *nested* » PCR accroît la sensibilité et la spécificité de la PCR.



85 Réponses immunitaires primaires et secondaires. Lors de l'exposition initiale à un antigène (vaccin ou pathogène), la production d'anticorps est maximale en 2 à 3 semaines, et les anticorps produits sont surtout des IgM, de faible affinité. A la seconde exposition, la réponse est plus intense et rapide (2 à 3 jours). Les anticorps produits sont à haute affinité, principalement des IgG et IgA.

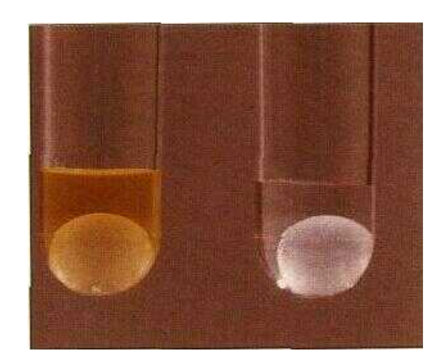
tiale), et pendant la convalescence (10 à 14 jours plus tard) sont nécessaires, avec une élévation d'un facteur au moins égal à 4 du titre, pour affirmer l'infection.

Détection des IgM

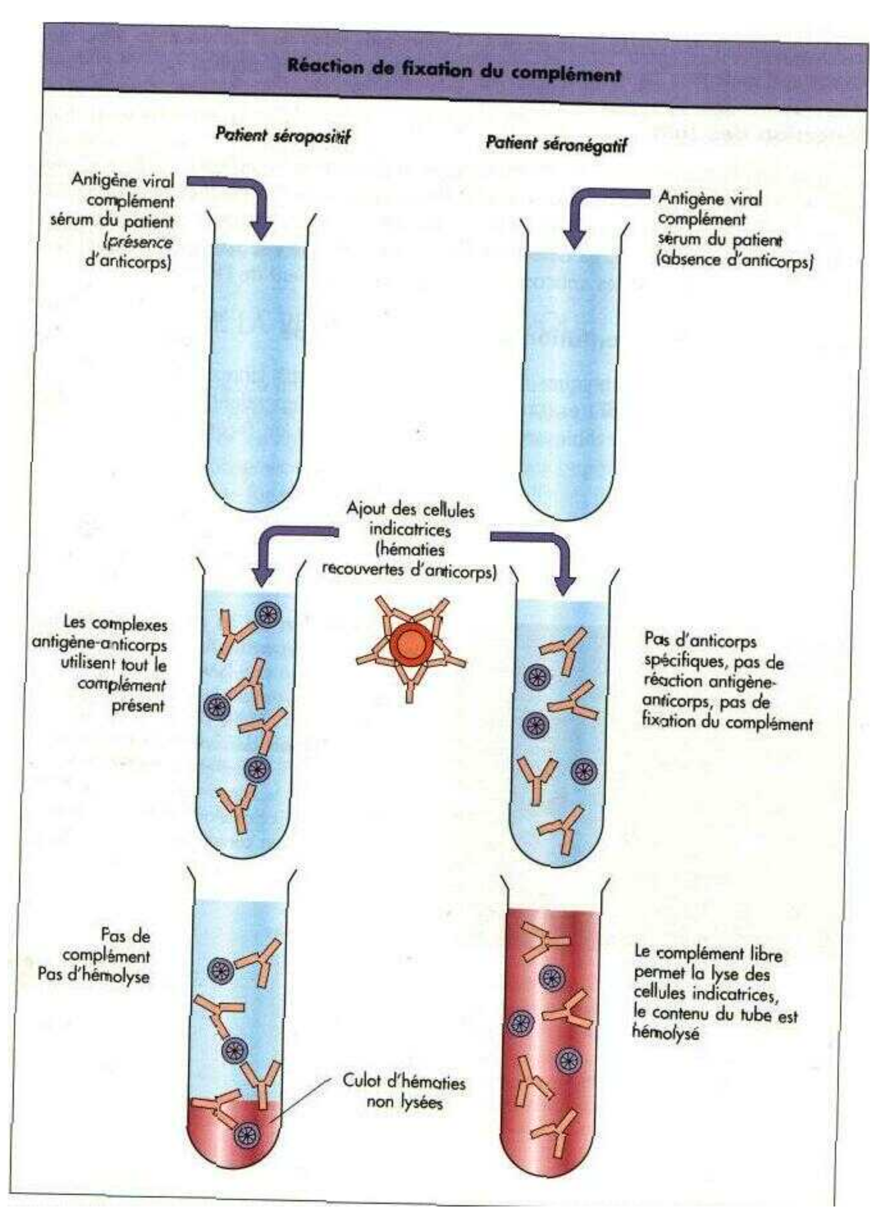
Les IgM sont la première classe d'anticorps produite, et leur détection peut fournir une preuve précoce de l'infection. Elles sont utiles, par exemple, au diagnostic précoce de l'infection à EBV. Cependant, elles sont habituellement indétectables avant le cinq ou sixième jour de la maladie. La détection des IgM du virus de l'hépatite A fournit un diagnostic précoce (86), car les anticorps apparaissent au moment de l'ictère.

Détection de l'augmentation du titre d'anticorps

Une grande variété de techniques de détection des anticorps viraux est disponible. La fixation du complément (87) est une méthode éprouvée. Cependant, elle souffre d'une sensibilité moyenne, est techniquement délicate, et détecte de façon indifférenciée les



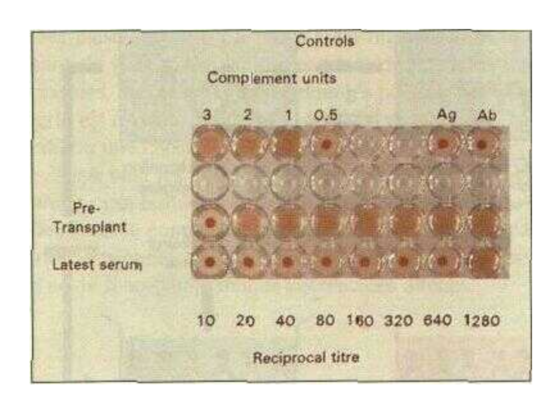
86 Détection de la réponse IgM au virus de l'hépatite A. La bille, recouverte d'anticorps anti-IgM, est mise en contact avec le sérum du patient, piégeant les IgM. Elle est ensuite placée dans une solution contenant des antigènes HAV couplés à un enzyme. Si le patient possède des IgM, la bille va fixer le complexe antigène-enzyme, et une coloration se développera lors de la mise en contact avec une solution du substrat de l'enzyme.



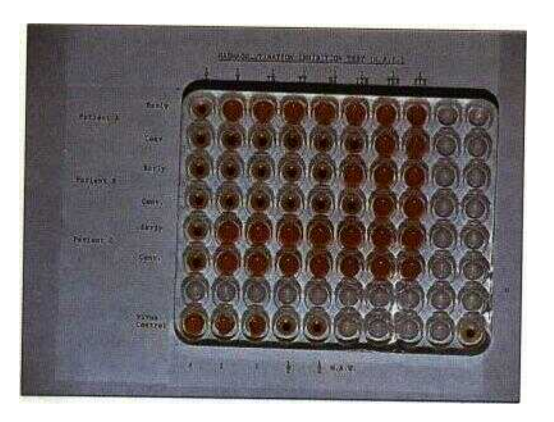
87 Réaction de fixation du compliment.

IgM et les IgG. Elle est de moins en moins utilisée comme outil diagnostic, mais garde encore une valeur certaine (88).

Les anticorps dirigés contre le virus des oreillons, le virus de la grippe ou les Parainfluenzavirus, peuvent se fixer sur les spicules d'hémagglutinine de leurs virus respectifs, et empêcher ainsi la liaison de ces derniers aux récepteurs érythrocytaires (les acides sialiques). On peut donc estimer le taux d'anticorps par inhibition d'hémagglutination (89). Pour doser des anticorps neutralisants, on mesure leur capacité à inhiber la réplication virale. Tous les anticorps de la réponse immunitaire à l'infection ne sont pas neutralisants, et cette méthode est surtout utilisée pour le typage de certains virus (différenciation des Echovirus, par exemple). L'ELISA est probablement la plus sensible et la plus polyvalente des techniques. Deux configurations sont disponibles (90). Dans la première, des antigènes viraux recouvrant le fond des puits sont mis en contact avec des dilutions des sérums. La détection des complexes antigène-anticorps du patient se fait par adjonction d'un anticorps anti-humain couplé à un enzyme approprié En utilisant des conjugués enzymatiques anti-IgG, IgA, IgM, ou même anti-IgE humaines, on détecte séparément les différentes classes d'anticorps antiviraux. Dans la seconde configuration, les puits sont recouverts d'anticorps anti-IgG, anti-lgA, ou anti-lgM humaines, qui capturent tous les anticorps de ces classes présents dans l'échantillon. On ajoute alors l'antigène viral spécifique, puis un anticorps conjugué à un enzyme, spécifique de l'antigène. Cette méthode est des plus utiles quand les taux d'anticorps sont relativement faibles, par exemple pour détecter des IgA, IgM, ou IgG spécifiques dans la salive.



88 Plateau de l'OMS montrant une réaction de fixation du complément. Une hémolyse signifie l'absence d'anticorps antiviral; l'absence d'hémolyse signifie que l'anticorps antiviral est présent. Le sérum prélevé chez le patient avant transplantation montre des anticorps anti-CMV à la dilution au 1/10. Un échantillon prélevé huit semaines après la transplantation, lors d'un rejet, montre que le titre est monté au 1 /640.



89 Réaction d'inhibition d'hémagglutination (IHA). Un sédiment cellulaire au fond des puits indique que les hématies n'ont pas été agglutinées par le virus de la grippe, cor des anticorps étaient présents. Chez le patient A, le titre d'IHA était de 1:4 au début de la maladie, mais a atteint 1:128 trois semaines plus tard.

Capture d'antigène ELISA

Échantillon de salive

Puits recouvert d'anticorps anti-IgG humaines

3 lavages

Ajout de l'antigène spécifique (ex. VIH)

Les IgG de l'échantillon sont capturées

3 lavages

Ajout d'un anticorps (non humain) dirigé contre l'antigène (VIH) couplé à un enzyme

Les IgG de l'échantillon capturent l'antigène

3 lavages

Ajout du substrat de l'enzyme

Incubation à 37 °C

90 Détection d'anticorps antiviraux par méthode ELISA. La technique d'immuno-capture fournit des réactions plus sensibles pour détecter les IgG, les IgA ou les IgM dans la salive.

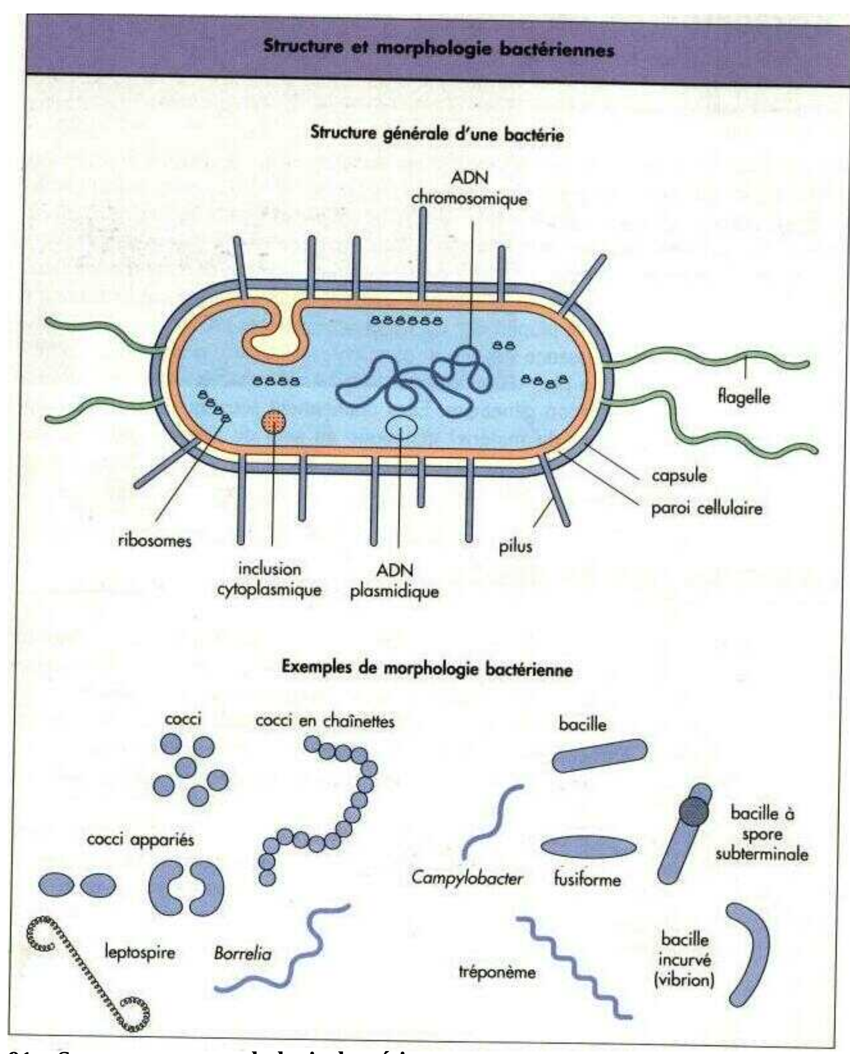
4.
Bactéries et infections bactériennes

Les infections bactériennes sont responsables de maladies allant de l'angine bénigne aux épidémies de choléra et de peste. Les bactéries sont des micro-organismes remarquablement adaptables, à l'origine de maladies graves ou de simple colonisation de la peau. Elles sont capables de survivre et se multiplier dans l'environnement et certaines forment des spores qui survivent pendant des décennies. Un grand nombre parasite les animaux, et n'infecte l'homme que par hasard. D'autres ne peuvent survivre qu'au contact intime de leur hôte humain. Alors que la plupart des bactéries se répliquent en quelques heures ou jours, d'autres ont une croissance beaucoup plus lente, entraînant des infections chroniques difficiles à traiter. En plus d'une grande diversité d'habitat, les bactéries ont un important potentiel d'adaptation génétique. Elles contiennent souvent de l'ADN plasmidique, capable de transférer du matériel génétique au sein de l'espèce ou vers des espèces différentes. Cette adaptabilité génétique peut accroître à la fois leur pouvoir pathogène et leur résistance aux antibiotiques.

STRUCTURE DES BACTÉRIES

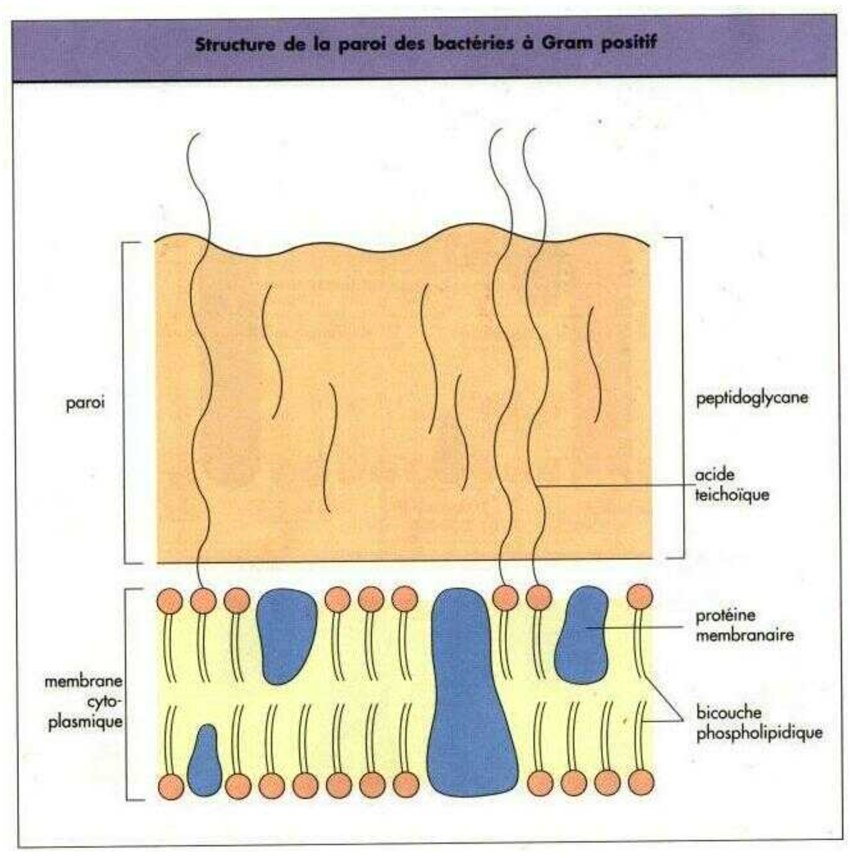
Les bactéries sont des cellules procaryotes, leur ADN n'étant pas localisé dans un noyau (91). Beaucoup contiennent des structures circulaires d'ADN extra-chromosomique appelées plasmides. Il n'y a pas d'autre organite dans le cytoplasme que les ribosomes, qui sont de plus petite taille que ceux des cellules eucaryotes. À l'exception des mycoplasmes, les bactéries sont entourées par une paroi complexe, différente selon que la bactérie est à Gram positif ou négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles, des pili, ou une capsule à l'extérieur de la paroi.

Aussi bien les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif ont une membrane cytoplasmique formée d'une bicouche lipidique associée à des protéines. Dans les deux cas, le composant principal de structure de la paroi est le peptidoglycane, un réseau tridimensionnel de chaînes polysaccharidiques (composées de N-acétylgiucosamine et 'd'acide N-acétylmuramique) et d'acides aminés.



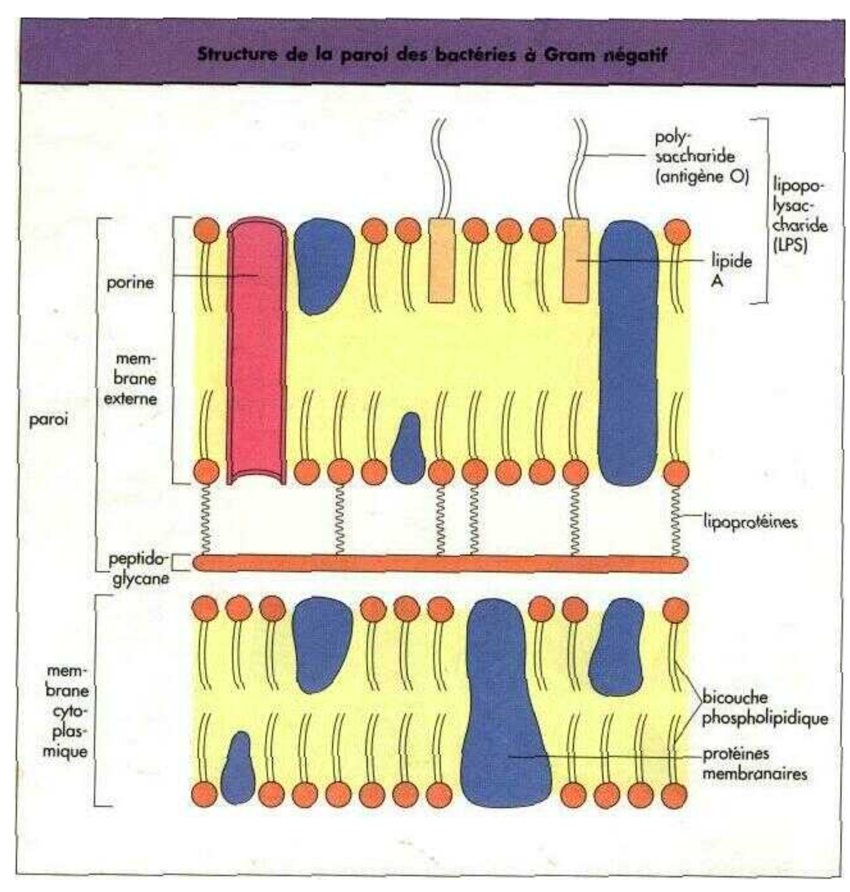
91 Structure et morphologie bactériennes.

Chez les bactéries à Gram positif, la paroi est constituée presque exclusivement de la couche de peptidoglycane, à laquelle sont associés des polymères d'acide teichoîque (92). Les bactéries à Gram négatif ont une paroi plus complexe. La couche de peptidoglycane est plus fine que celle des Gram positif, et elle est entourée par une membrane



92 Structure de la paroi des bactéries à Gram positif.

externe composée de lipopolysacchandes et de lipoprotéines (93). La partie lipopolysaccharidique de la paroi des Gram négatif comprend les molécules d'endotoxine (lipide A) qui contribuent au pouvoir pathogène bactérien.

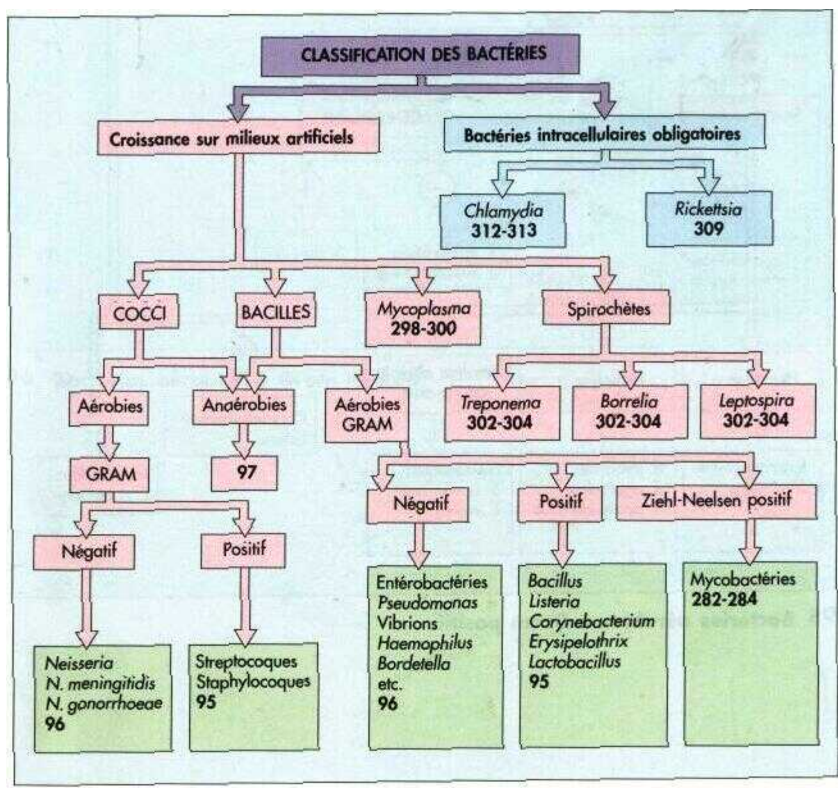


93 Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif.

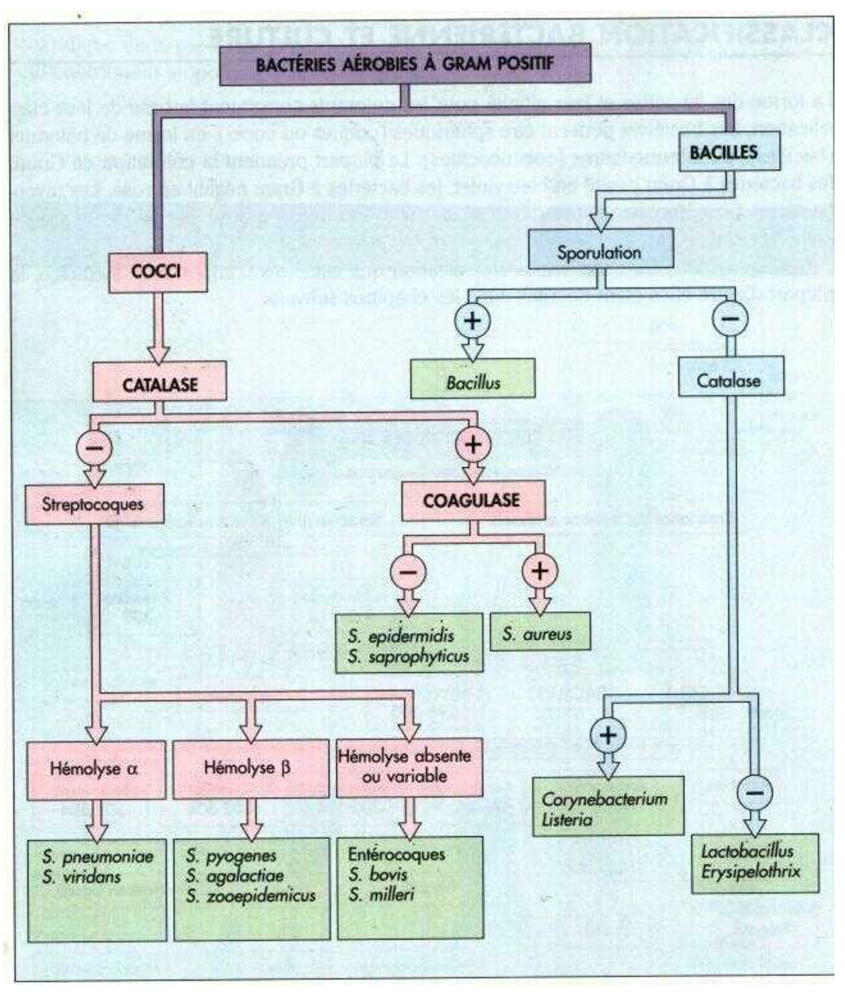
CLASSIFICATION BACTÉRIENNE ET CULTURE

La forme des bactéries et leur affinité pour les colorants constituent la base de leur classification. Les bactéries peuvent être sphériques (coques ou cocci), en forme de bâtonnet (bacilles), ou intermédiaires (coccobacilles). La plupart prennent la coloration de Gram, les bactéries à Gram positif en bleu-violet, les bactéries à Gram négatif en rosé. Les mycobactéries (ex. *Mycobacterium tuberculosis)* sont colorées en rosé par la technique de Ziehl-Neelsen.

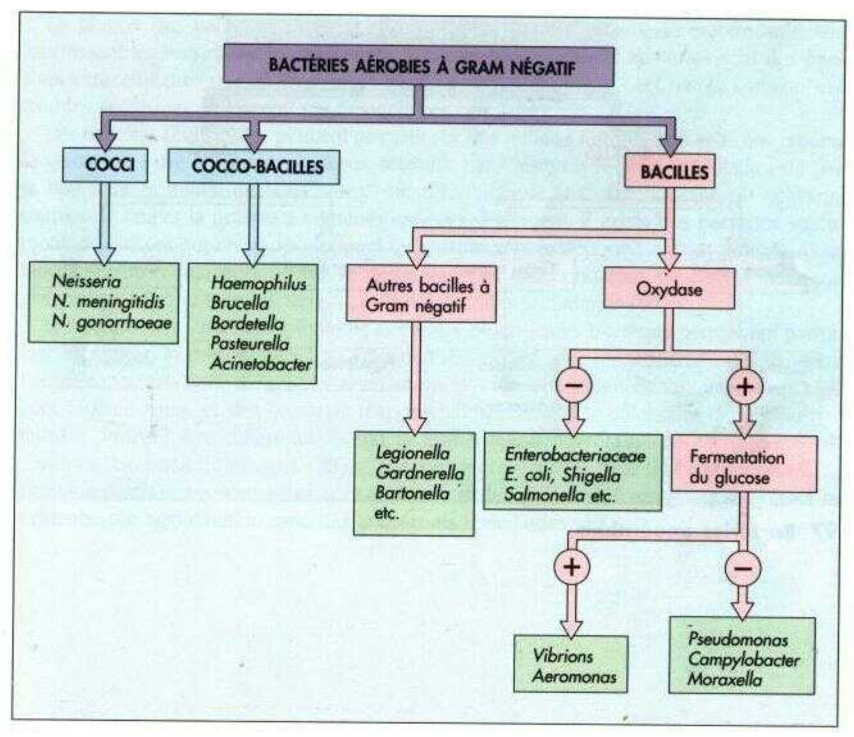
Les figures 94 à 97 détaillent la classification des bactéries d'importance médicale, **la** plupart d'entre elles étant décrites dans les chapitres suivants.



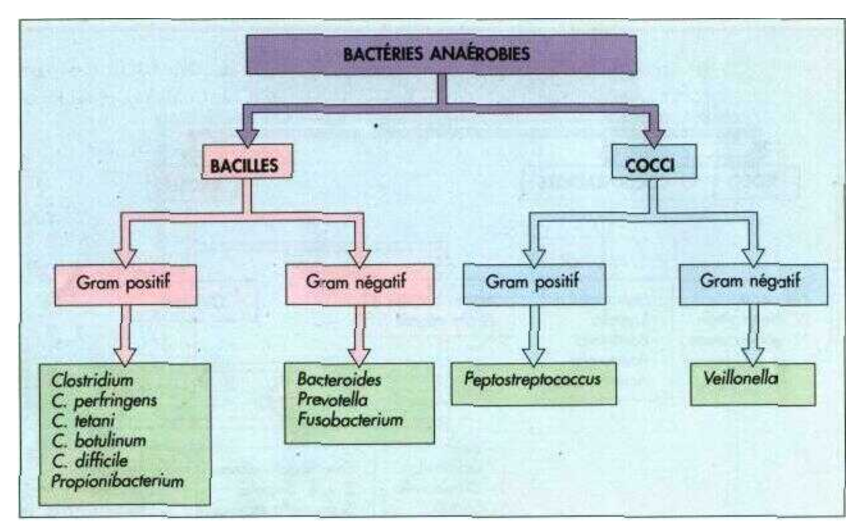
94 Classification des bactéries.



95 Bactéries aérobies à Grain positif.



96 Badines aérobies à Gram négatif.



97 Bactéries anaérobies.

La plupart des bactéries peuvent être cultivées sur des milieux de culture artificiels, fournissant les nutriments nécessaires à la croissance. Certaines bactéries sont des parasites intracellulaires obligatoires (telles les *Rickettsia, Chiamydia,* ou *Coxiellà),* et sont cultivables seulement *in vivo ou* sur des cultures cellulaires.

Les bactéries cultivables peuvent pousser sur des milieux nutritifs non sélectifs comme la gélose au sang, ou sur des milieux sélectifs, dans lesquels la présence d'adjuvant (ex la bile dans le milieu de MacConkey) ou d'antibiotique (ex. vancomycine ou colistine) permet de limiter la pousse à certaines espèces seulement. II existe des bactéries strictement anaérobies qui ne se développent qu'en atmosphère dépourvue d'oxygène Dans un laboratoire de diagnostic, on utilise des milieux et des conditions de culture différents pour isoler telle ou telle bactérie à partir d'échantillons cliniques (98).

Si les caractères microscopiques et culturaux de quelques bactéries permettent parfois une identification présomptive (ex. *Vibrio cholerae, Neisseria meninsitidis)* des examens complémentaires sont en général nécessaires pour la confirmer. Beaucoup de ces tests sont biochimiques, et des bactéries d'apparence similaire à la coloration de Gram et en culture peuvent être différenciées par la fermentation d'hydrates de carbone ou par d'autres réactions chimiques (99). Chez plusieurs espèces (ex. *Salmonella enterica N. meninsitidis),* des sous-types sont définis par des différences antigéniques, mises en évidence par agglutination avec des antisérums spécifiques (100).

Milieux de cultures bactériennes		
Milieu	Principaux ingrédients	Utilisation
Gélose au sang	Gélose nutritive + 5 % de sang de cheval ou de mouton	Milieu non sélectif pour une grande variété de bactéries à Gram positif et négatif peu exigeantes
Gélose BCYE *(buffered charcoal yeast extract)*	Extrait de levure, charbon, L-cystéine, α-cétoglutarate	Sélectif des légionelles
Milieu *Campylobacter*	Base nutritive + vancomycine, triméthoprime, amphotéricine B	Sélectif des *Campylobacter*
Gélose CIN (cefsulodine-irgasan-novobiocine)	Base peptonée et antibiotiques	Sélectif des *Yersinia*
Gélose CCBA *(charcoal cephalexin blood agar)*	Gélose au charbon, sang de mouton, céphalexine	Sélectif des *Bordetella*
Gélose chocolat	Gélose au sang chauffé. Les hématies sont lysées et libèrent des facteurs de croissance (X et V)	Culture des *Haemophilus* et des *Neisseria*
Gélose CCFA (cyclosérine-céfoxitine-fructose)	Base au jaune d'œuf avec fructose et antibiotiques	Sélectif de *Clostridium difficile*
Gélose CLED *(cystine-lactose-electrolyte deficient)*	Base peptonée au lactose et L-cystéine. Le bleu de bromothymol (indicateur de pH) inhibe le nappage des *Proteus*	Isolement des bactéries urinaires
Gélose DCL	Base peptonée avec lactose, désoxycholate et rouge neutre (indicateur de pH)	Milieu sélectif des salmonelles et des shigelles
Gélose sang-kanamycine	Base gélosée au sang + kanamycine	Sélectif des *Bacteroides*
Milieu de Kligler-Hajna	Gélose peptonée au lactose, glucose, rouge de phénol et sulfate ferreux	Milieu en pente pour différencier les entérobactéries

98 Milieux de culture bactérienne.

Milieux de cultures bactériennes *(suite)*

Milieu	Principaux ingrédients	Utilisation
Milieu de Löwenstein-Jensen	Milieu à l'œuf et au vert malachite	Sélectif des mycobactéries
Gélose de MacConkey	Base peptonée aux sels biliaires, lactose et rouge neutre. Les germes fermentant le lactose acidifient le milieu, formant des colonies roses	Milieu peu sélectif des bactéries entériques, permettant la distinction entre germes fermentant ou non le lactose
Milieu de Chapman mannité	Base peptonée contenant du mannitol, du chlorure de sodium et du rouge de phénol	Milieu sélectif et différentiel pour l'isolement de *Staphylococcus aureus*
Milieu MNYC *(modified New York City)*	Base peptonée à l'hémoglobine et à la levure + vancomycine et colistine	Isolement sélectif de *Neisseria gonorrhoeae* des prélèvements urogénitaux
Gélose SS (salmonelle-shigelle)	Base peptonée aux sels biliaires, lactose, citrate de fer et rouge neutre	Milieu sélectif d'isolement des salmonelles et shigelles
Gélose de MacConkey au sorbitol	Base peptonée aux sels biliaires, sorbitol et rouge neutre	Différenciation des colibacilles ne fermentant pas le sorbitol (*E. coli* O157:H7)
Milieu tellurite au sang	Gélose au sang avec du tellurite de potassium	Milieu sélectif de *Corynebacterium diphteriae*, qui réduit le tellurite et forme des colonies noires.
Milieu de Thayer-Martin	Base gélosée au sang avec suppléments et antibiotiques incluant vancomycine et colistine	Isolement sélectif des *Neisseria*
Gélose TCBS (thiosulfate-citrate-bile-sucrose)	Base peptonée au thiosulfate, citrate, sucrose et bleu de thymol	Milieu sélectif des vibrions. *V. cholerae* fermente le sucrose et produit des colonies jaunes
Gélose XLD (xylose-lysine-désoxycholate)	Extrait de levure, lysine, xylose, lactose et citrate de fer	Milieu sélectif et différentiel pour *Shigella* (colonies roses), et *Salmonella* (colonies roses et noires)

Réactions biochimiques d'identification des bactéries		
Réaction	Principe de la réaction	Exemples d'application
Lyse par la bile	Les sels biliaires dissolvent *Streptococcus pneumoniae*	Distinction entre *S. pneumoniae* et les autres streptocoques α-hémolytiques
Catalase	L'enzyme dissocie H_2O_2 en formant des bulles d'oxygène	Différenciation des streptocoques (–) des staphylocoques (+)
Coagulase	L'enzyme coagule le plasma	Différenciation des staphylocoques à coagulase + *(S. aureus)* des staphylocoques à coagulase –
Milieu à la viande cuite	Une réaction saccharolytique entraîne un rougissement de la viande. Une protéolyse entraîne un noircissement	Distinction entre *Clostridium perfringens* (saccharolytique) et les autres *Clostridium*
ADNase	Une désoxyribonucléase hydrolyse l'ADN. L'ADN non hydrolysé précipite en présence d'acide chlorhydrique	Distinction entre *S. aureus* ADNase + et les autres staphylocoques (ADNase –)
Sensibilité aux colorants	La pousse des différentes espèces de *Brucella* est inhibée par la thionine et/ou la fuchsine	Différenciation des *Brucella*
Méthode de Hiss	Détection de la pousse et de la production d'acide à partir de différents hydrates de carbone	Différenciation des corynébactéries
Production d'indole	Le tryptophane est métabolisé en indole que colore en rouge le réactif de Kovacs	Distinction entre *E. coli* et d'autres entérobactéries (*E. coli* est indole +)
Citrate de Simmons	La pousse sur ce milieu entraîne une alcalinisation et le virage de l'indicateur du vert au bleu	Reconnaissance des bactéries qui peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone
Gélose à l'œuf lactosée	Détection d'une activité lécithinase, de la fermentation du lactose et d'une protéolyse	Identification des *Clostridium*
Liqueur de tournesol	Réduction enzymatique et décoloration de la liqueur de tournesol	Identification des entérocoques et de certains *Clostridium* (réaction +)

99 Réactions biochimiques d'identification des bactéries.

Réactions biochimiques d'identification des bactéries *(suite)*		
Réaction	Principe de la réaction	Exemples d'application
Rouge de méthyle	Production d'acide en quantité suffisante pour faire virer l'indicateur au rouge	Distinction entre *E. coli* et les *Enterobacter*
Réaction de Nagler	Détection d'une activité lécithinase par opacification d'une gélose au jaune d'œuf	Distinction entre *Clostridium perfringens* et les autres *Clostridium*
Méthode des sucres pour les *Neisseria*	Fermentation du glucose, du maltose et du lactose par les *Neisseria*	*Différenciation de N. gonorrhoeae* (glucose seulement) et *N. meningitidis* (glucose et maltose) des autres espèces
Réduction des nitrates	Détection d'une nitrate réductase par formation de nitrites	Différenciation des entérobactéries (réaction +) d'autres bacilles à Gram –
Oxydase	*Oxydation de la paraphénylène*-diamine en un composé bleu	Réaction + pour *Vibrio cholerae*
Oxydation-fermentation	Incubation des germes en milieu glucosé en aérobiose (oxydation) et en anaérobiose (fermentation)	Distinction entre les germes à métabolisme strictement oxydatif (ex. *Pseudomonas) et les* fermentants (ex. entérobactéries)
Réaction des sucres en eau peptonée	*Utilisation* de différents hydrates de carbone en eau peptonée	Différenciation des espèces d'entérobactéries
Phénylalanine désaminase	Hydrolyse de la phénylalanine en phénylpyruvate, qui *produit une* couleur verte avec le chlorure ferrique	Différenciation des *Proteus (réaction +)* des autres entérobactéries
Uréase	Les bactéries productrices d'uréase hydrolysent l'urée en ammoniaque colorant le rouge de phénol en rouge	Les *Proteus* sont uréase +
Réaction de VP (Voges-Proskauer)	*Certains germes fermentent* le glucose et produisent de l'acétoïne qui forme une coloration rose avec la créatine	Distinction entre les entérobactéries VP+ (ex. *Klebsiella pneumoniae*) et les VP– (ex. *Escherichia coli*)
Exigence en facteurs X et V	Certains germes ne poussent qu'en présence d'hémine (facteur X) et/ou de NAD (facteur V)	*Identification des Haemophilus*

Exemples de typage bactérien selon des caractères antigéniques		
Bactérie	Méthode de typage	Antigène utilisé
Streptocoques β-hémolytiques	Groupage selon Lancefield	Polysaccharides de paroi; les souches des groupes A, B, C, D et G sont les plus souvent rencontrées en pathologie humaine
Streptococcus pyogenes (groupe A, β-hémolytique)	Méthode de Griffith	Protéine M de paroi pour différencier les souches virulentes de *Streptococcus pyogenes*
Streptococcus pneumoniae	Sérotypage	Polysaccharide capsulaire. Permet de distinguer plus de 80 sérotypes
Neisseria meningitidis	Sérogroupage	Polysaccharide capsulaire. Permet de distinguer 13 sérogroupes, les principaux pathogènes humains étant A, B, C, et W135
N. meningitidis	Sous-typage	Protéine de membrane externe de classes 2 et 3, ex. sérogroupe B, type 15
N. meningitidis	Sérotypage (typage selon Frasch)	Protéine de membrane externe de classe 1, qui permet une discrimination plus poussée, particulièrement dans le groupe B
Haemophilus influenzae	Typage selon Pittman	Polysaccharide capsulaire. Permet de distinguer 6 types, de a à f. Le type b est responsable de la plupart des infections invasives
Salmonelles	Méthode de Kaufman-White	Classification des salmonelles basée sur les antigènes somatiques O et flagellaires H
Shigelles	Sérogroupage et sérotypage	Les antigènes O déterminent les 4 principaux groupes : A, *S. dysenteriae;* B, *S. flexneri;* C, *S. boydii*, et D, *S. sonnei*. Ils permettent aussi de définir des sérotypes parmi les groupes A, B et C
Vibrio cholerae	Sérogroupage	Antigènes somatiques O. Les sérogroupes O1 et O139 sont responsables du choléra
V. cholerae 01	Sous-typage	Les antigènes A, B et C du sérogroupe O1 définissent les sous-types Ogawa, Inaba et Hikojima

100 Exemples de typage bactérien selon des caractères antigéniques.

BACTÉRIES AÉROBIES À GRAM POSITIF

COCC1 AÉROBIES À GRAM POSITIF

Les caractéristiques des cocci à Gram positif sont résumées dans les tableaux 101 à **103** et 113 à 115.

Cocci à Gram positif Infections					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Staphylocoques					
S. epidermidis	Bactériémies chez l'immunodéprimé	Infections fréquentes sur dispositifs intra-vasculaires	Non	—	—
S. saprophyticus	Infections urinaires		Non	—	—
S. aureus	Furoncle, impétigo, infections de plaie, ostéomyélite, septicémie	Pneumonie, endocardite, syndrome du choc toxique, intoxication alimentaire	Non	—	—
Microcoques	Contaminants occasionnels d'échantillons cliniques				
Streptocoques					
a) β-hémolytiques					
S. pyogenes (Groupe A)	Angine, impétigo, cellulite, scarlatine (rhumatisme articulaire aigu, glomérulonéphrite)	Fièvre puerpérale, érysipèle, septicémie	Non	1 à 3 jours	—
S. agalactiae (Groupe B)	Infection néonatale, méningite	Fièvre puerpérale, ostéomyélite	Non	—	—
S. zooepidemicus (Groupe C)	Bactériémie		Non	—	—

101 Cocci à Gram positif. Infections.

Cocci à Gram positif Sources et mode de transmission								
	Réservoir			Transmission				
Organisme	Homme	Animal	Env.	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Staphylococcus epidermidis	+	-	-	-	-	+	+	
S. saprophyticus	+	-	-	-	-	+	-	
S. aureus	+	+	±	+	+	+	+	Souches résistantes à la méticilline (important problème hospitalier)
Microcoques	+	-	+	-	-	+	±	
Strepococcus pyogenes	+	-	-	-	+	+	+	
S. agalactiae	+	-	-	-	+	+	-	
S. zooepidemicus	+	+		+	±	-	-	Épidémies à partir de lait non pasteurisé

102 Cocci à Gram positif. Sources et modes de transmission.

Cocci à Gram positif Caractères d'identification				
Organisme	Gram	Culture sur gélose au sang	Catalase	Autres réactions
Staphylococcus epidermidis	cocci G+	colonies blanches	+	coagulase – mannitol –
S. saprophyticus	cocci G+	colonies blanches	+	coagulase – mannitol ±
S. aureus	cocci G+	colonies jaunes	+	coagulase +
Microcoques	cocci G+	colonies jaune/orange	+	coagulase – sensibilité à la bacitracine
Streptococcus pyogenes	cocci G+ (chaînettes)	β-hémolytique	-	sensibilité à la bacitracine
S. agalactiae	cocci G+	β-hémolytique	-	CAMP test +
S. zooepidemicus	cocci G+	β-hémolytique	-	groupe C de Lancefield

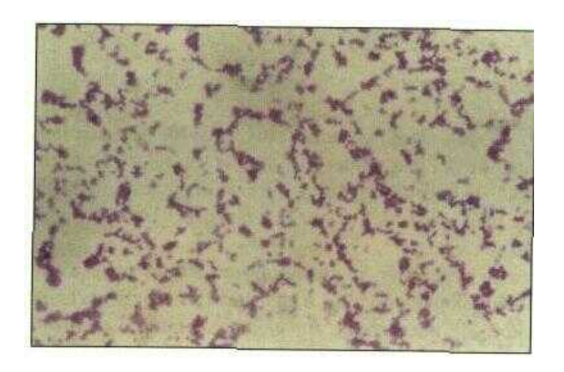
103 Cocci à Gram positif. Caractères d'identification

Staphylocoques

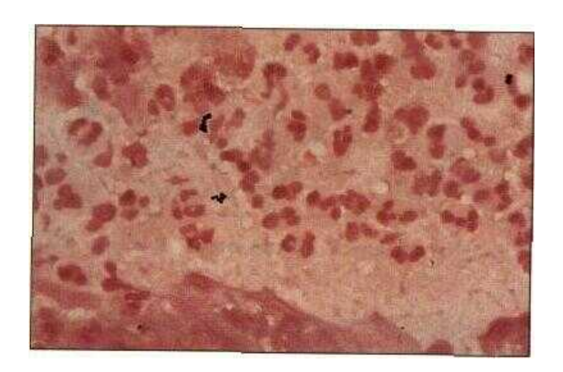
Les staphylocoques sont une composante essentielle de la flore humaine normale, mais comprennent aussi des espèces qui sont d'importants pathogènes. Après coloration, ils apparaissent sous la forme de cocci à Gram positif en amas (104, 105, 106). Les figures 107 et 108 montrent l'aspect de cultures de 5. *epidermidis* et 5. aureus sur gélose au sang.

La présence d'une coagulase est utilisée pour distinguer 5. aureus (coagulase positive) des autres staphylocoques (109). On peut aussi rechercher la présence d'une ADNase, 5. aureus produisant cet enzyme (110).

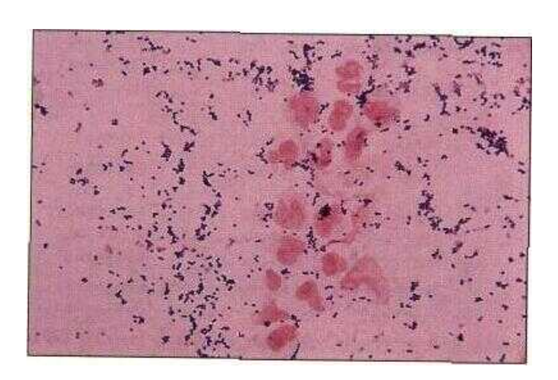
Des milieux sélectifs, comme la gélose hypersalée au mannitol, sont utilisés pour la culture de 5. aureus, lors d'études épidémiologiques visant à détecter des sujets porteurs (111). La figure 112 montre un& culture de microcoque sur gélose au sang. 11 s'agit de cocci à Gram positif rarement impliqués en clinique.



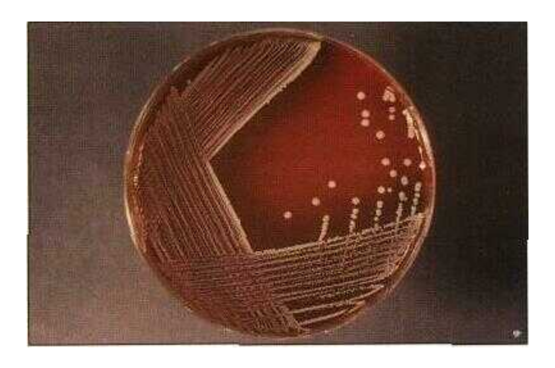
104 ***Staphylococcus aureus.*** Coloration de Gram montrant les cocci à Gram positif en amas typiques. S. oureus est un pathogène important, responsable d'infections cutanées, ostéomyélites, septicémies et pneumopathies. S. *aureus* est coagulase positive. *{Gram, x1000)*



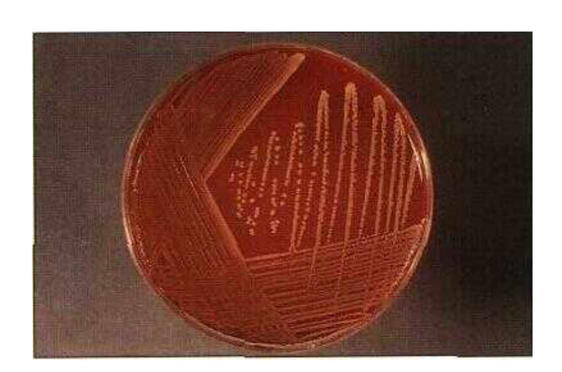
105 ***Staphylococcu5 aureus.*** Coloration de Gram d'hémoculture d'un patient septicémique. Une septicémie à S. oureus peut résulter de l'infection d'une blessure mineure. *{Gram, x1000)*



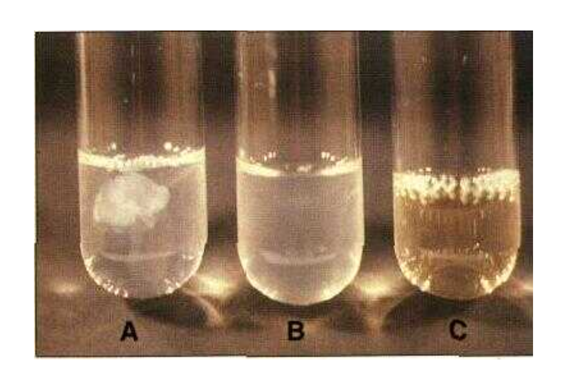
106 ***Staphylococcus aureus.*** Coloration de Gram de pus de blessure infectée à S. *aureus.* Remarquer les cocci à Gram positif et les polynucléaires altérés colorés en rosé. *(Gram, x1000f*



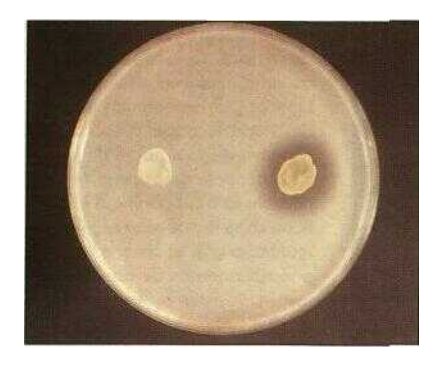
107 *Staphylococcus epidermidis.* Culture sur gélose au sang, montrant des colonies blanches. S. *epidermidis* est l'un des staphylocoques à coagulase négative. Ils font partie de la flore normale de la peau, mais peuvent être à l'origine d'infections chez le nouveau-né, l'immunodéprimé, et chez les patients porteurs de dispositif invasif. *(Gélose au sang, 18 h à 37 "Cl*



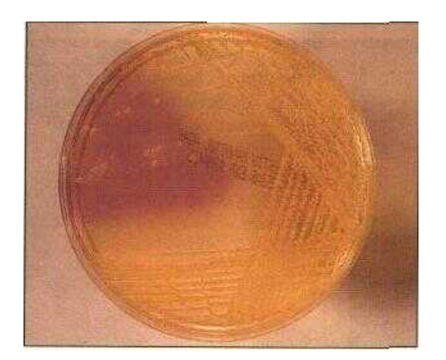
108 *Staphylococcus aureus.* Culture sur gélose au sang. Les colonies de S. aureus sont jaunes ou dorées, contrastant avec les colonies blanches de S. *epidermidis* et des autres staphylocoques à coagulase négative. *(Gélose au sang, 18 h à 37 °C)*



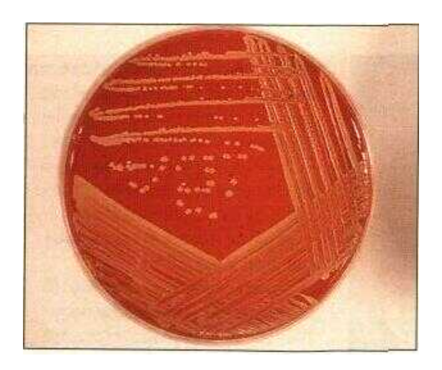
109 Activité coagulase en tube. S. aureus produit une coagulase capable de faire coaguler le plasma. Quelques gouttes de culture en bouillon des souches à étudier sont ajoutées à du plasma dilué au 1/10 dans du sérum physiologique. Les tubes sont incubés pendant 2 h à 37 °C. (A) : S. *aureus,* coagulase positive; (B) : S. *epidermidis,* coagulase négative; (C) : témoin négatif (plasma dilué,Nd7).(2hà37°C)



1 10 Production d'ADNase. Les staphylocoques à coagulase positive ou négative peuvent être différenciés en recherchant la production d'ADNase Après incubation d'une nuit sur un milieu contenant de l'ADN, on inonde la boîte avec de l'acide chlorhydrique dilué, qui précipite l'ADN non hydrolyse. Les colonies productrices d'ADNase sont entourées d'une zone transparente, là où l'ADN a été hydrolyse. 5. *aureus* est ADNase positive *(Gélose à l'ADN, 18 h à 37 -Ci*



111 ***Staphylococcus aureus.*** Culture sur gélose hypersalée au mannitol, montrant des colonies jaunes. Ce milieu sélectif permet la détection de sujets porteurs de S. aureus lors d'enquêtes épidémiologiques. *(Gélose hypersalée au mannitol, 18 h à 37 °Cj*



112 **Microcoque.** Culture sur gélose au sang, montrant des colonies jaune pâle Les microcoques sont des contaminants occasionnels des échantillons cliniques. *(Gélose au sang, 18 h à 37 °C)*

Cocci à Gram positif Infections					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Streptocoques (suite de **101**)					
b) α-hémolytiques					
S. pneumoniae	pneumopathies (PFLA), otites moyennes	méningites, septicémies	Oui (certains sérotypes)	—	—
S. viridans	caries dentaires	endocardites subaiguës bactériennes	Non	—	—
c) Groupe D					
Entérocoques *(E. faecalis)*	infections urinaires infections de plaie, abcès intra-adominaux	bactériémies endocardites	Non	—	—
S. bovis	endocardites, bactériémies		Non	—	—
Autres streptocoques					
S. milleri	infections abdominales, abcès cérébral, infections de plaie	—	Non	—	—

113 Cocci à Gram positif. Infections (suite du tableau **101).**

Cocci à Gram positif Sources et modes de transmission								
	Réservoir			Transmission				
Organisme	Homme	Animal	Env.	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
S. pneumoniae	+	-	-	-	+	-	-	Incidence croissante de la résistance à la pénicilline
S. viridans	+	-	-	-	±	+	-	
E. faecalis	+	-	-	-	-	+	+	Quelques souches résistantes à la vancomycine
S. bovis	+	+	-	-	-	+	-	
S. milleri	+	-	-	-	-	+	+	

114 Cocci à Gram positif. Sources et modes de transmission des bactéries.

Cocci à Gram positif Caractères d'identification			
Organisme	Gram	Culture sur gélose au sang	Réactions d'identification
Streptococcus pneumoniae	diplocoques G+	hémolyse α	sensible à l'optochine, soluble dans la bile
S. viridans	cocci G+	hémolyse α	résistant à l'optochine, insoluble dans la bile
E. faecalis	cocci G+	hémolyse variable	pousse sur milieu de MacConkey, réduction de la liqueur de tournesol
S. bovis	cocci G+	hémolyse variable	pas de pousse en milieu à 6,5 % de NaCl
S. milleri	cocci G+	petites colonies β-hémolytiques	réaction de Voges-Proskauer positive

115 Cocci à Gram positif. Caractères d'identification.

Streptocoques

Les streptocoques sont des cocci à Gram positif différenciables des staphylocoques par l'absence de catalase (116).

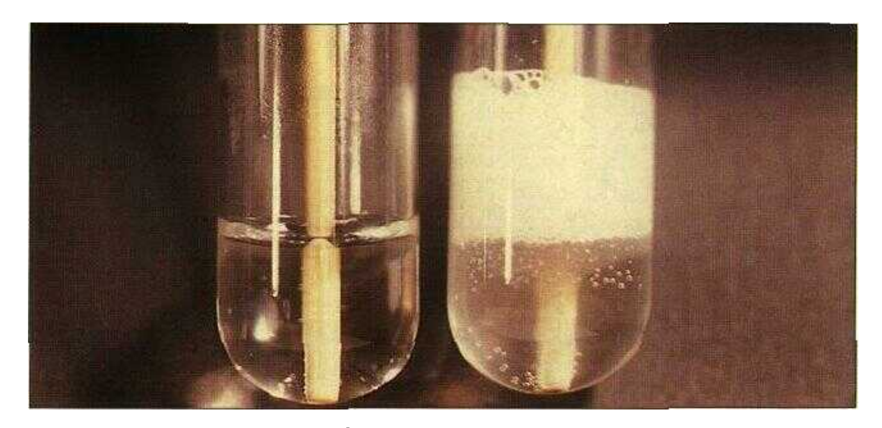
5. *pyogenes* est un pathogène **responsable de** toute **une gamme d'infections superficielles** et profondes. Il forme des chaînettes de cocci dans les **préparations colorées au Gram** (117). La figure **118** montre une coloration de Gram de 5. ***agalactiae* (streptocoque du** groupe B) dans l'hémoculture d'un nouveau-né septicémique.

Les streptocoques peuvent être classés selon l'hémolyse qu'ils produisent sur gélose au sang. 5. *pyogenes* produit une hémolyse claire de type P (119)

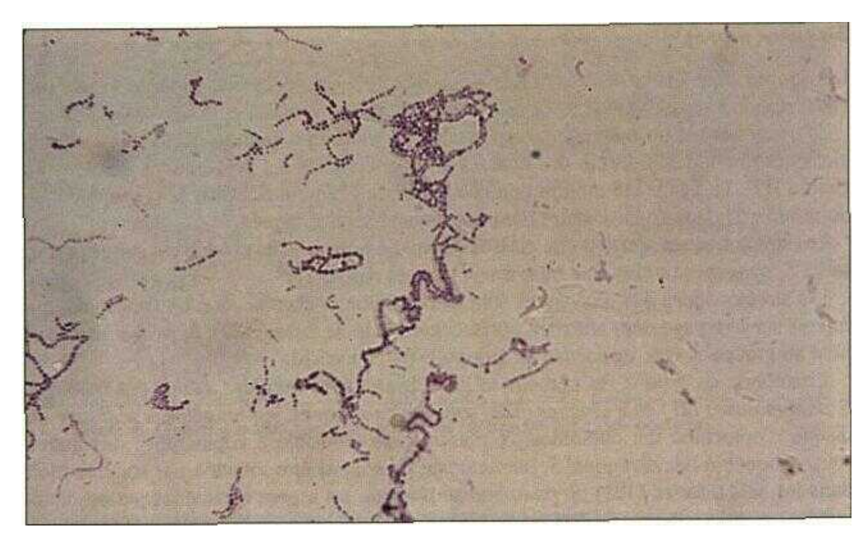
Les streptocoques p-hémolytiques sont divisés selon la classification de Lancefield, qui repose sur le typage d'un antigène polysaccharidique de paroi (120). 5. *pyogenes* appartient au groupe A et 5. *agalactiae* au groupe B de Lancefield.

L'hémolyse de type a est partielle et produit une zone verdâtre autour des colonies. *S. pneumoniae* (121) et 5. *viridans* (122) sont a-hémolytiques; sur les géloses se trouve un disque d'optochine qui différencie *S. pneumoniae* (sensible à l'optochine) des autres streptocoques a-hémolytiques. 5. *pneumoniae* peut aussi être identifié par solubilisation dans les sels biliaires (123). 5. *pneumoniae* possède un aspect caractéristique en diplocoque à la coloration de Gram (124 et 125)

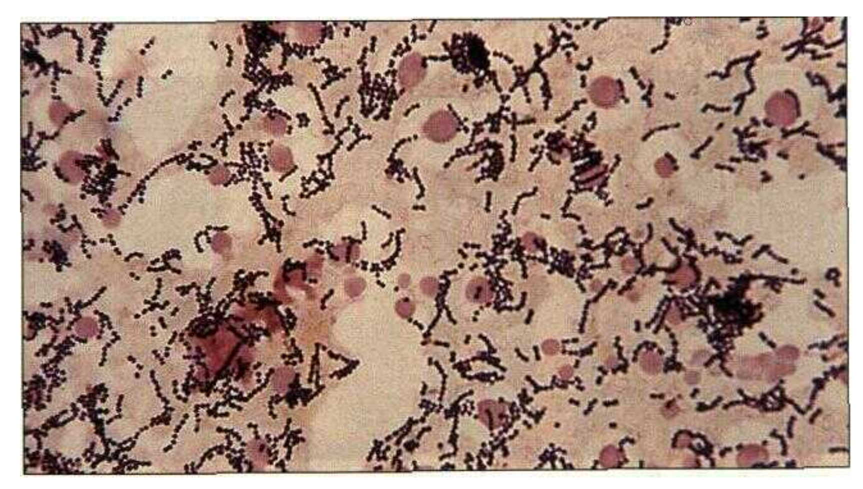
La plupart-dès-streptocoques intestinaux sont aujourd'hui classés dans le genre *Enterococcus* Ils'poussent sur le milieu de MacConkey qui contient de la bile (126). Les entérocoques se différencient des streptocoques par leur capacité à réduire la liqueur de tournesol (127). Les streptocoques du groupe « *milleri* » (128) sont des germes micro-aérophiles associés à des abcès abdominaux et cérébraux.



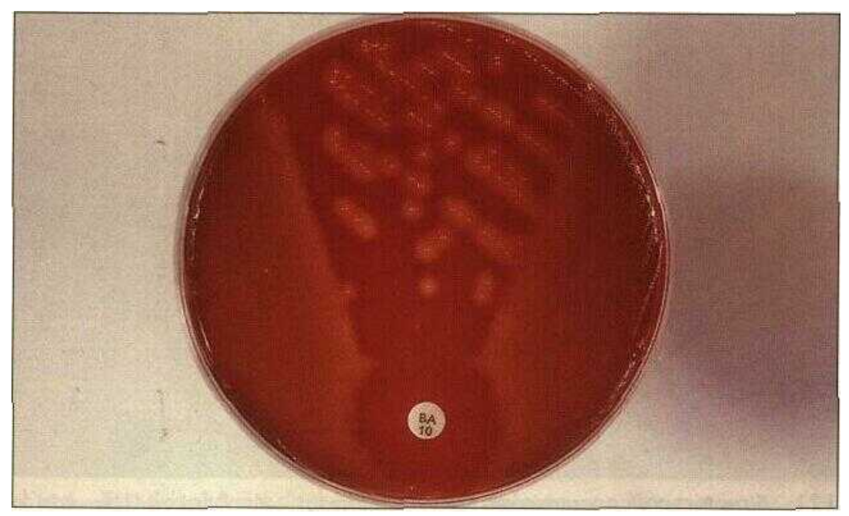
116 Recherche d'une activité catalase. Les staphylocoques (catalase positive) et les streptocoques (catalase négative) peuvent être différenciés par ce test. Les germes producteurs de catalase peuvent dissocier le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau. Un petit inoculum bactérien est introduit dans un tube contenant 2 à 3 ml de H_2O_2. Un dégagement de bulles s'observe avec les germes catalase positive. A gauche : catalase négative; à droite : catalase positive. *(Aspect après 1 minf*



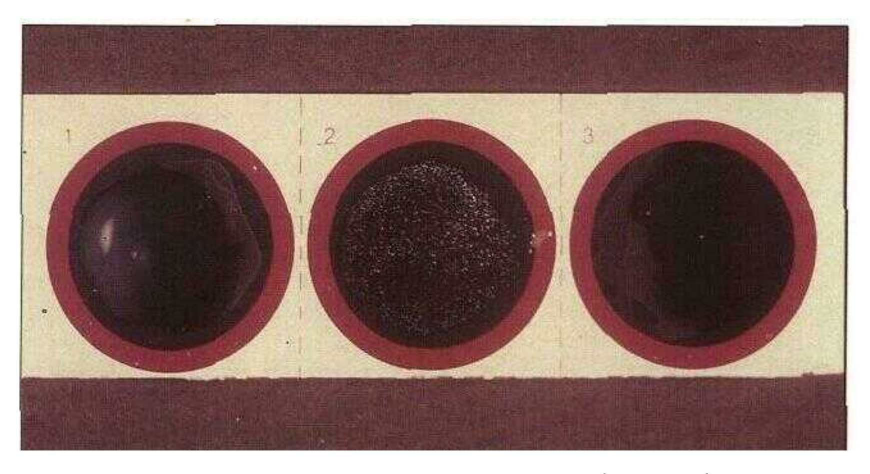
117 ***Streptococcus pyogenes.*** Coloration de Gram montrant des cocci à Gram positif en chaînettes typiques. Les streptocoques des différents groupes de Lancefield ont un aspect similaire au Gram. *(Gram, x1000)*



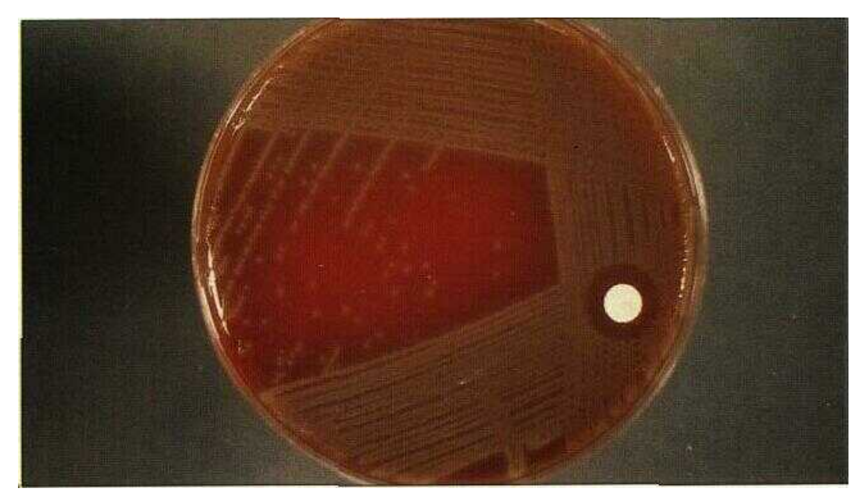
118 ***Streptococcus agalactiae* (groupe B de Lancefield).** Coloration de Gram montrant des cocci à Gram positif dans une hémoculture de nouveau-né. Les streptocoques du groupe B sont une cause importante de méningite et d'infection généralisée du nouveau-né. *(Gram, x1000)*



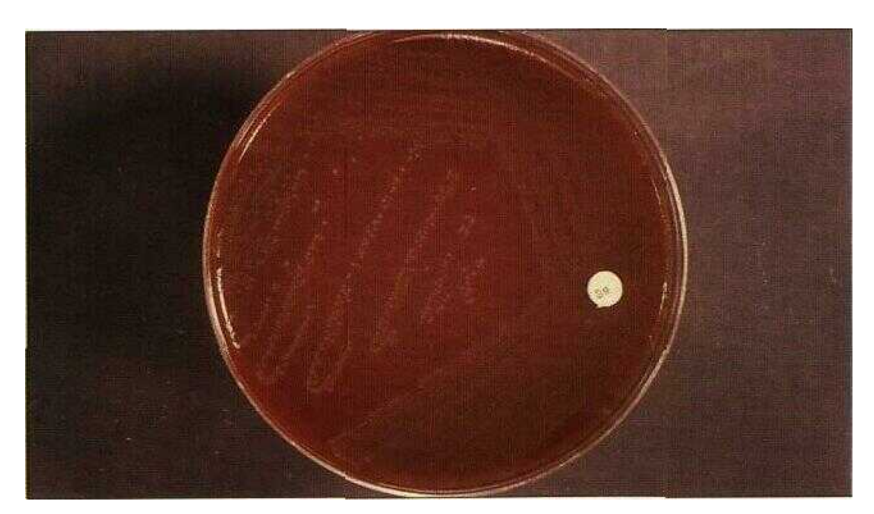
119 Culture de *Streptococcus pyogenes* sur gélose au sang. Les colonies sont entourées d'une zone d'hémolyse claire de type p. La boîte contient un disque de bacitracine, à laquelle S. pyogenes est sensible (à la différence de la plupart des autres streptocoques β-hémolytiques). *(Gélose au sang, 18 h à 37 °Cj*



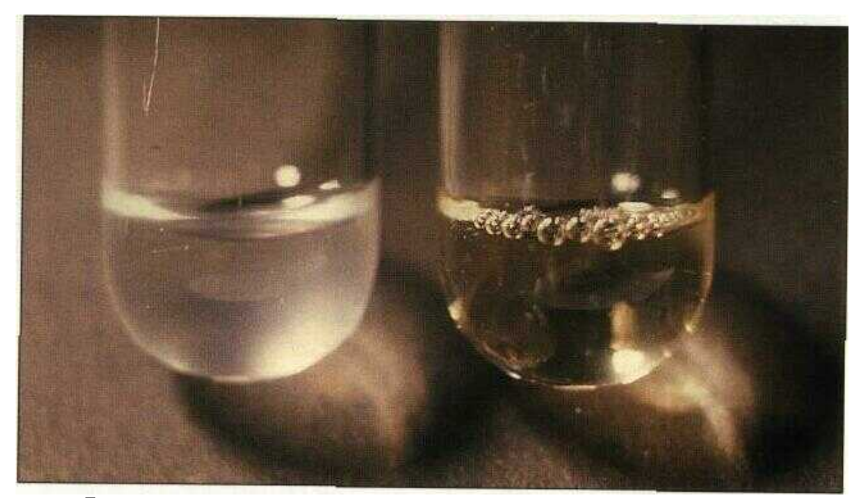
120 Groupage de Lancefield. Les streptocoques sont classés dans différents groupes, selon la nature d'un antigène polysaccharidique de paroi. On peut utiliser une technique d'agglutination sur lame avec des antisérums spécifiques de chaque groupe. La réaction est positive dans le cercle du milieu. *(Agglutination après 2 min à température ambiante)*



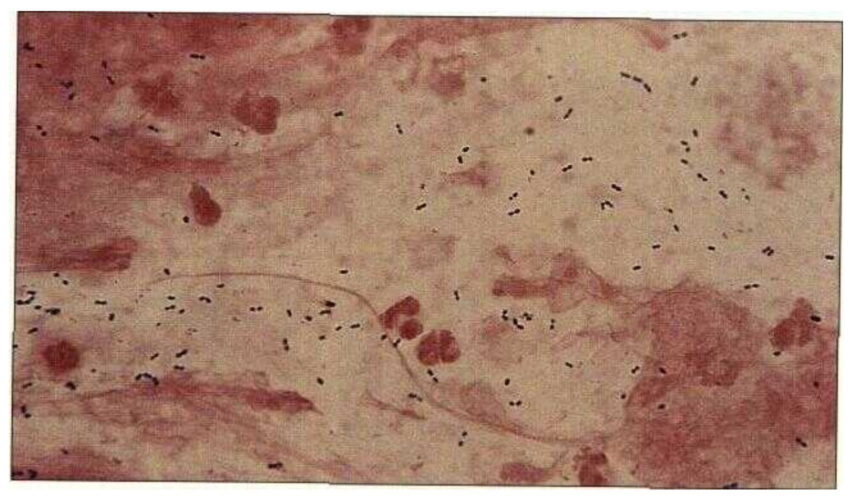
121 ***Streptococcus pneumoniae.*** Culture sur gélose au sang. Remarquer l'hémolyse de type a (verdâtre) des colonies. La boîte contient un disque d'optochine, réactif auquel S. pneumoniae est sensible, à la différence des autres streptocoques a-hémolytiques. *(Gélose au sang, 18 h à 37 "Cl*



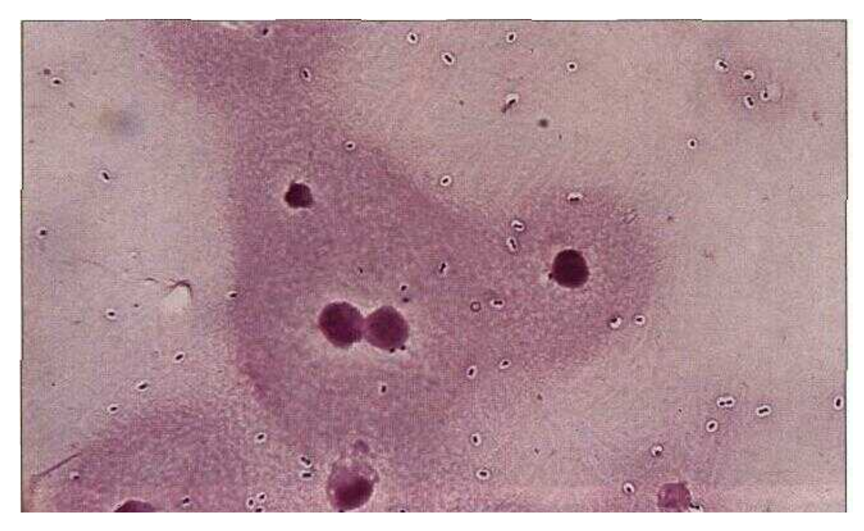
122 ***Streptococcus « viridans ».*** Culture sur gélose au sang montrant l'hémolyse a et la résistance à l'optochine. Ces streptocoques font partie de la flore buccale normale, mais sont aussi responsables d'endocardites bactériennes chez des patients présentant des anomalies congénitales ou acquises des valves cardiaques. *(Gélose au sang, 18 h à 37 °C)*



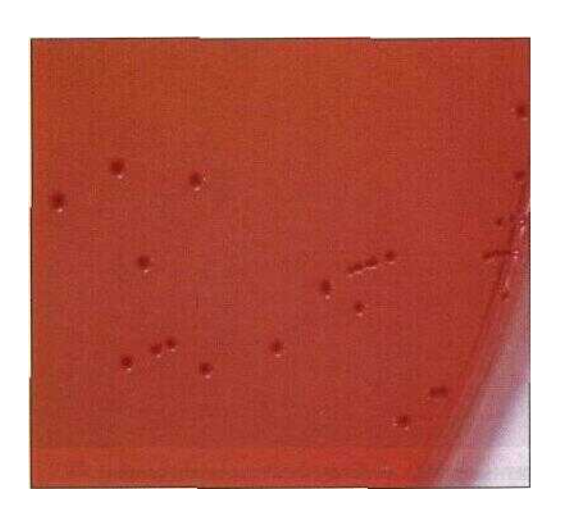
123 Test de solubilité dans la bile. Test supplémentaire pour différencier les pneumocoques des autres streptocoques a-hémolytiques. Un fort inoculum du germe étudié est mis en suspension dans du sérum physiologique, puis on ajoute un sel biliaire (ex. désoxycholate de sodium). Ce dernier permet la dissolution du pneumocoque, et clarifie la solution trouble. À gauche 5 *viridans;* *à* droite 5. pneumoniae. *(Solubilisation en 3 min après l'addition du sel biliaire)*



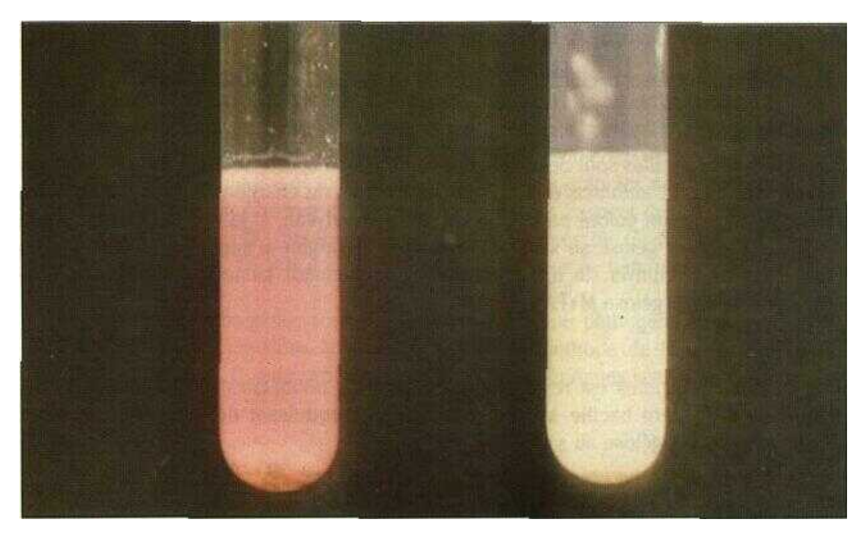
124 ***Streptococcus pneumoniae.*** Coloration de Gram montrant les diplocoques à Gram positif lancéolés typiques de S. *pneumoniae* (pneumocoque). Crachat d'un patient au cours d'une pneumonie à pneumocoque. *{Gram, x1000j*



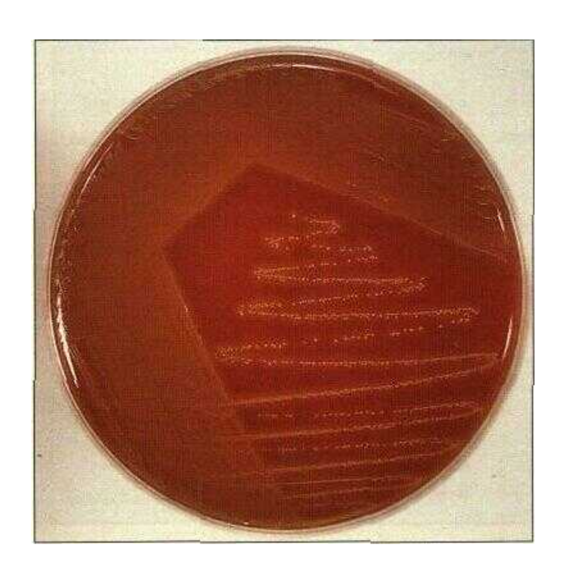
125 ***Streptococcus pneumoniae.*** Coloration de Gram du liquide cephalorachidien d'un patient présentant une méningite pneumococcique. Les halos clairs entourant les diplo-coques sont dus à la présence d'une capsule. *(Gram, x1000l*



126 ***Enterococcus faecalis.*** Croissance sur gélose de MacConkey montrant des colonies punctiformes rouges. Les entérocoques sont un groupe de *Streptococcaceae* de l'intestin humain. Ils poussent sur milieu de MacConkey, à la différence des streptocoques Ils sont associés à des infections urinaires, des infections de plaie et des endocardites bactériennes. *(Gélose de MacConkey, 18 h à 37 °C)*



127 Enterococcus *faecalis.* Décoloration de la liqueur de trounesol. La souche étudiée est incubée 4 h à 37 °C dans la liqueur de tournesol. Les entérocoques décolorent le réactif (à droite) Le contrôle négatif (à gauche) est un streptocoque a-hémolytique non groupable. *[4 h à 37 °C]*



128 Streptocoque du groupe « *milleri* ». Commensales du tube digestif, mais associées à des abcès intra-abdominaux, ces bactéries produisent de petites colonies sur gélose au sang. *(Gélose au sang, 18 h à 37 °C)*

BACILLES AÉROBIES À GRAM POSITIF

Les caractéristiques des bacilles à Gram positif sont résumées dans les tableaux **129 à 131.**

Bacillus

Les espèces de *Bacillus* sont des bacilles à Gram positif sporulés. Beaucoup ne sont pas pathogènes, mais *B. anthracis* est l'agent de la maladie du charbon. La figure 132 montre le bacille du charbon coloré par la réaction de MacFadyean, et la figure 133 une culture de *B. anthracis* sur gélose au sang. *B. cereus* est à l'origine d'intoxications alimentaires (134). On peut le cultiver sur un milieu sélectif au mannitol, jaune d'œuf, rouge de phénol et polymyxine (gélose MYPA) (135).

Listeria

Listeria monocytogenes est responsable d'infections néonatales et chez l'immunodéprimé C'est un petit bacille à Gram positif (136) produisant des colonies claires et p-hémolytiques sur gélose au sang (137).

Bacilles aérobies à Gram positif **Infections**					
Organisme	Principale infection	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
a) Sporulé					
Bacillus					
B. anthracis	Charbon		(Oui)	2 à 5 jours	—
B. cereus	Intoxication alimentaire	Infections de plaie, endocardites	Non		
b) Non sporulé					
Listeria					
L. monocytogenes	Infection néonatale sévère, méningoencéphalite	Septicémie chez l'immunodéprimé	Non	3 jours à 3 semaines	
Corynebacterium					
C. diphteriae	Diphtérie	Infections cutanées	Oui	2 à 5 jours	Jusqu'à 4 semaines
C. urealyticum	Cystites				
C. jeikeium	Infections sur cathéter et matériel étranger		Non		
Erysipelothrix *E. rhusiopathiae*	Érysipéloïde de Rosenbach	Bactériémies, endocardites	Non	—	—
Lactobacillus	—	Rares endocardites, abcès	Non	—	—

129 Bacilles à Gram positif aérobies. Infections.

Corynébactéries

C. *diphteriae* est l'agent de la diphtérie. La coloration de Ernst-Neisser montre des granulations métachromatiques (grains de volutine) dans les bacilles diphtériques (138). La coloration de Gram des corynébactéries montre de petits bacilles à Gram positif, souvent arrangés en « lettres chinoises » (139). Lespèce C *diphteriae* est divisée en trois biotypes : *gravis, intermedius* et *mitis.* Tous produisent des colonies noires sur milieu au tellunte (140), mais on observe quelques variations dans l'aspect des colonies de chacun d'entre eux (141 à 143). Seules les souches toxmogènes de C. *diphteriae* sont responsables de diphtérie. Le test d'Elek (144) est utilisé pour rechercher la production de la toxine.

Plusieurs corynébactéries sont dépourvues de pouvoir pathogène, et peuvent être différenciées par des réactions biochimiques selon la méthode de Hiss (145 à 147). Une espèce apparentée, C. *jeikeium,* est à l'origine, de bactériémies sur cathéter intraveineux.

Lactobacilles

Les lactobacilles (148,149) font partie de la flore normale du tube digestif et du vagin, et sont rarement associés à une pathologie.

Bacilles à Gram positif
Sources et modes de transmission

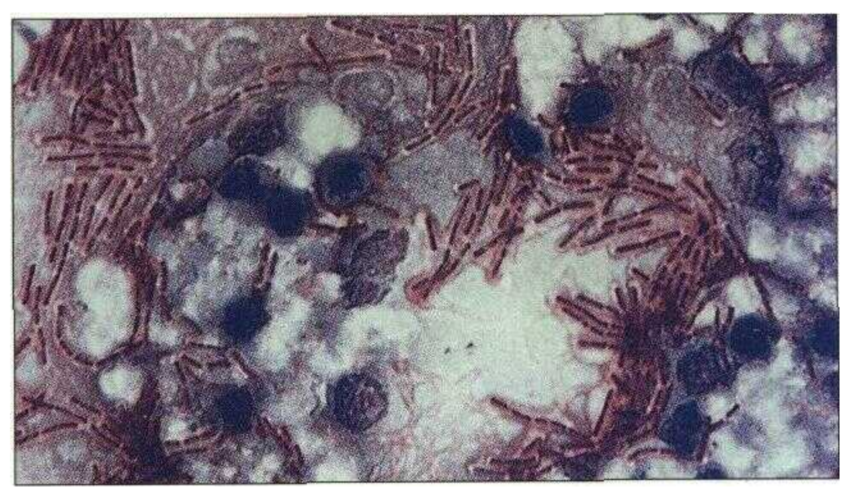
	Réservoir			Transmission				
Organisme	Homme	Animal	Env.	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Bacillus anthracis	-	+	+	-	+	+	-	Pathogène capable de traverser la peau intacte
B. cereus	-	-	+	+	-	+	-	
Listeria monocytogenes	+	+	+	+	-	+ (néo-natale)	-	
Corynebacterium diphteriae	+	-	-	-	+	+	-	Toxine mise en évidence par le test d'Elek
C. urealyticum	+	-	-	-	-	+	-	
C. jeikeium	+	-	-	-	-	+	+	
Erysipelothrix rhusiopathiae	-	+	+		-	+	-	Maladie professionnelle (vétérinaires/fermiers)
Lactobacillus	+	-	-	-	-	±	-	

130 Bacilles à Gram positif aérobies. Sources et modes de transmission.

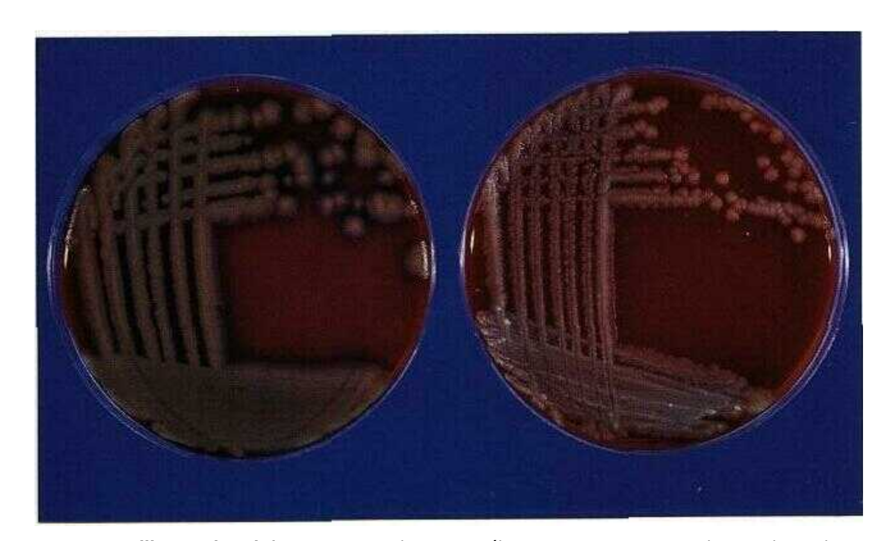
Bacilles à Gram positif
Caractères d'identification

Organisme	Gram	Culture	Réactions d'identification	Glu	Mal	Sac	Amidon	Uréase
Bacillus anthracis	grands bacilles G+	gris-blanc sur gélose au sang, non hémolytique	bacilles mauves à la coloration de Loeffler au bleu de méthylène, gélatinase positive					
B. cereus	grands bacilles G+	β-hémolyse sur gélose au sang	colonies grises sur gélose mannitol-jaune d'œuf polymyxine					
Listeria monocytogenes	petits bacilles G+	β-hémolyse sur gélose au sang	mobilité péritriche, pousse bien à +4 °C					
C. diphteriae	bacilles pléomorphes G+ granules de volutine à la coloration d'Albert-Neisser	colonies noires sur milieu tellurite	réaction de différentiation par la méthode des sucres de Hiss	+	+	-	+	-
C. hofmannii	bacilles G+	"		-	-	-	-	+
C. urealyticum	"	"		-	-	-	-	+
C. jeikeium	"	"		+	±	-	±	-
Erysipelothrix rhusiopathiae	petits bacilles G+	hémolyse α sur gélose au sang	immobile; H_2S+					
Lactobacillus	grands bacilles G+	aspect et taille des colonies variables	catalase –					

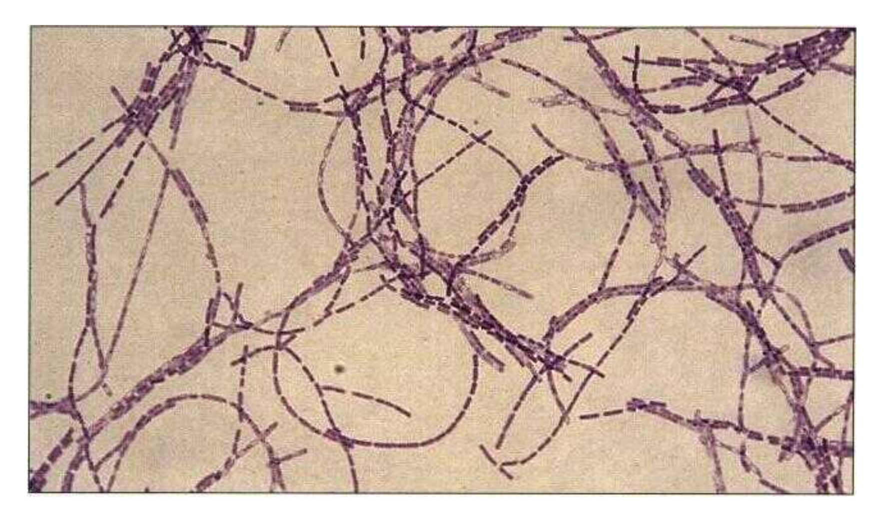
131 Bacilles à Gram positif aérobies. Caractères d'identification.



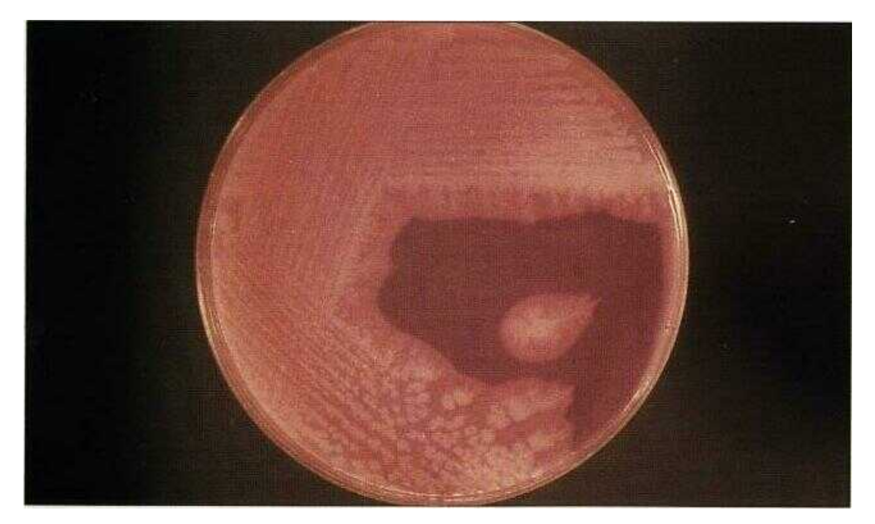
132 ***Bacillus anthracis.*** Coloration au bleu de méthylène polychrome (réaction de McFadyean). La capsule est colorée en rosé-mauve. *(Bleu de méthylène polychrome, x1000)*



133 ***Bacillus anthracis/B. cereus.*** Culture sur gélose au sang, montrant de grandes colonies gris-blanc aux bords ondulés. Les espèces de *Bacillus* saprophytes sont habituellement hémolytiques. Le charbon est extrêmement infectieux et de grandes précautions doivent être prises lors de la manipulation d'échantillons au laboratoire. *(Gélose au sang, 18 h à 37 °Cf*



134 ***Bacillus cereus.*** Coloration de Gram montrant de longs bacilles a Gram positif, souvent disposes en chaînettes 6 cereus est responsable d'intoxications alimentaires, et l'on utilise un milieu sélectif pour l'isoler des selles ou de l'alimentation (milieu MYPA mannitol, [aune d œuf, rouge de phénol et polymyxine) *(Gram, ×1000}*

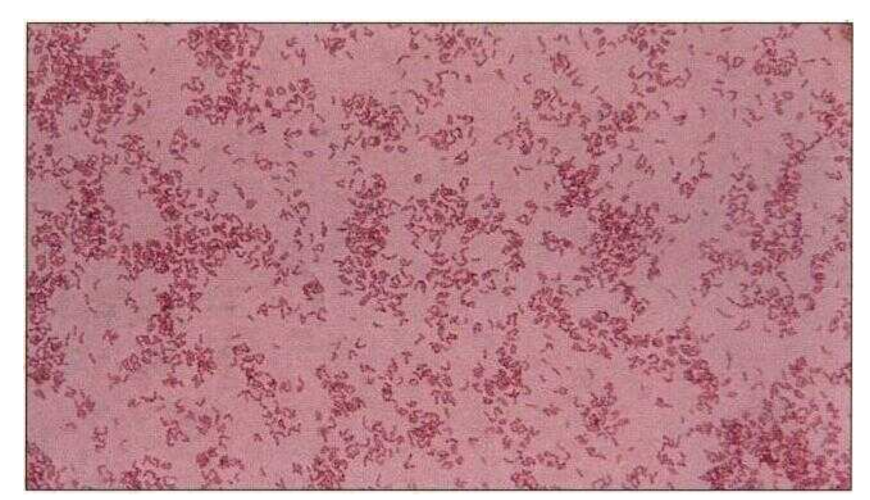


135 ***Bacillus cereus,*** **culture sur milieu MYPA.** 6 cereus forme de grandes colonies gris blanc, entourées par un halo de précipite blanc Le milieu MYPA peut être utilise dans l'investigation d'intoxications alimentaires pour isoler 8 cereus des selles ou de l'alimentation *(Gélose au mannitol* (aune *d'œuf, rouge de phénol et polymyxine, 18 h a 37 °Q*

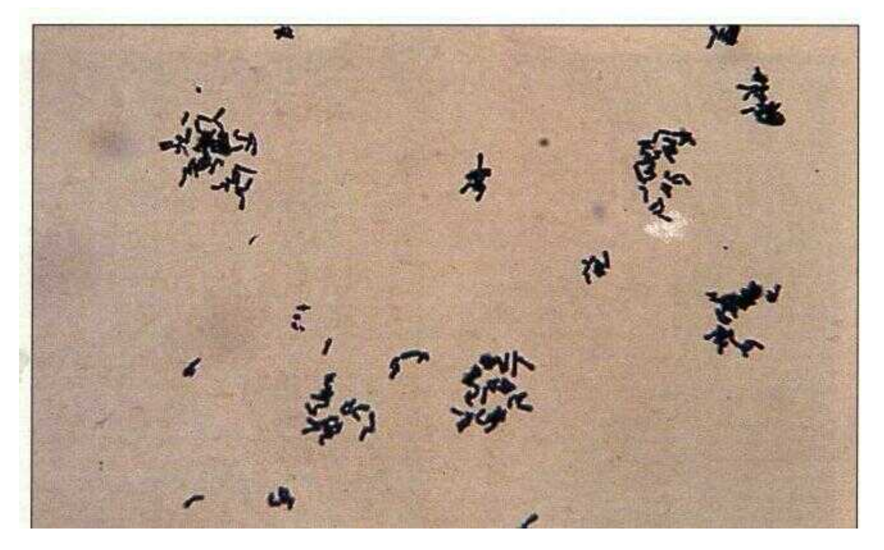


136 ***Listeria monocytogenes.*** Coloration de Gram du liquide céphalorachidien lors d'une méningite neonatale a *L monocytogenes,* montrant de petits bacilles a Gram positif fGram, x*10001*

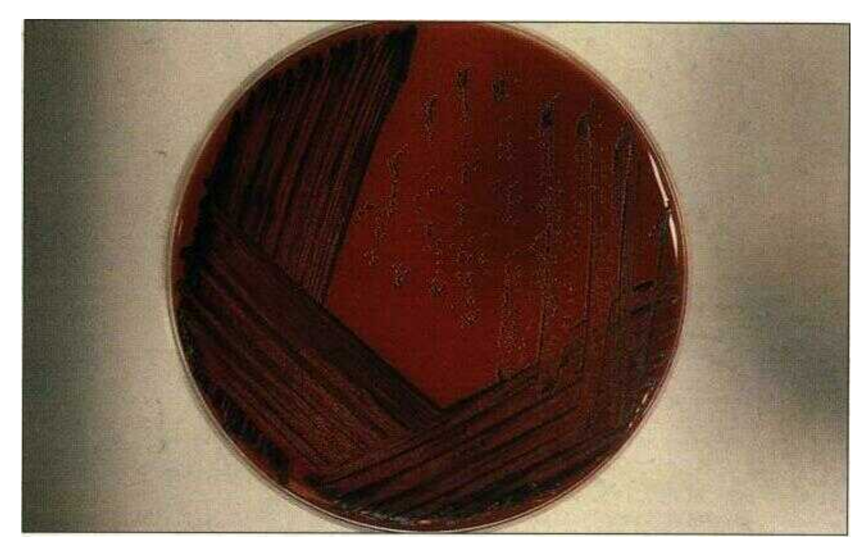
137 ***Listeria monocytogenes.*** Culture sur gélose au sang montrant de petites colonies claires entourées d'un halo d'hémolyse p 1 *monocytogenes* peut pousser a +4 °C *(Gélose au sang 18 h a 37 °C]*



***138 Corynebacterium diphteriae,* coloration de Ernst-Neisser.** La coloration montre les grains de volutine caractéristiques de C *diphteriae, a* l'intérieur des bacilles *(Coloration de Ernst Neisser, xi 000)*



139 Coloration de Grain de corynébactéries. Plusieurs espèces sont commensales de la peau On remarque les arrangements bacillaires en « lettres chinoises » *{Qram, x1000j*



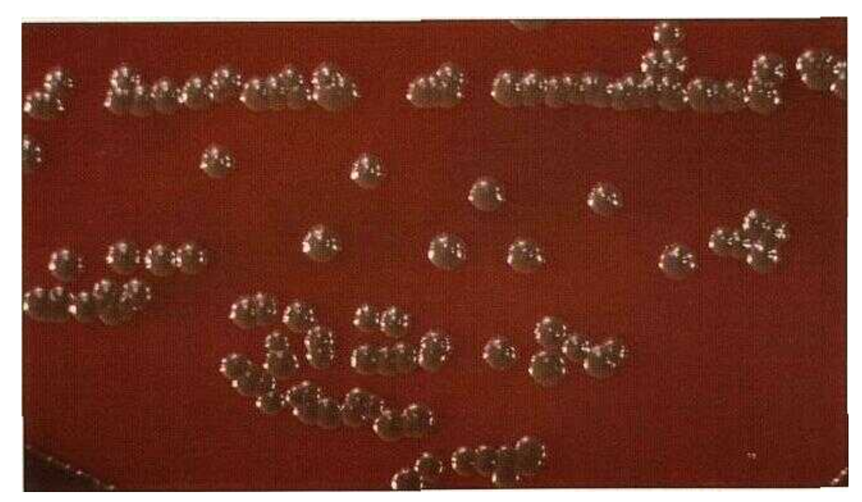
140 ***Corynebacterium diphteriae,*** **sur milieu tellurite et sang.** C *diphteriae* réduit le tellurite en formant des colonies gris noir Les corynébactéries commensales sont grises *(Gélose au sang et tellunfe,* 45 h à 37 °*Q*



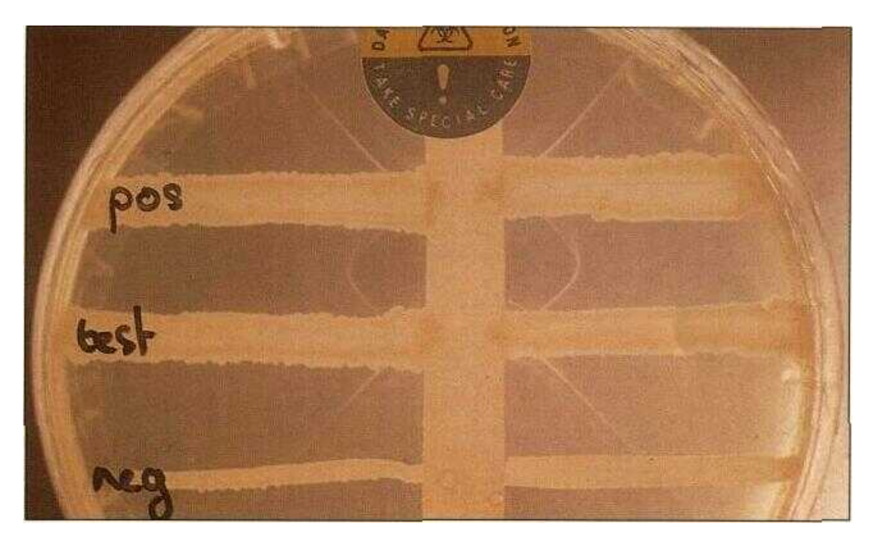
141 ***Corynebacferium diphteriae,*** **biotype** ***gravis.*** Gros plan des colonies montrant les bords stries (aspect en marguerite) *(Gélose au sang et tellunfe, 48 h a 37 °C)*



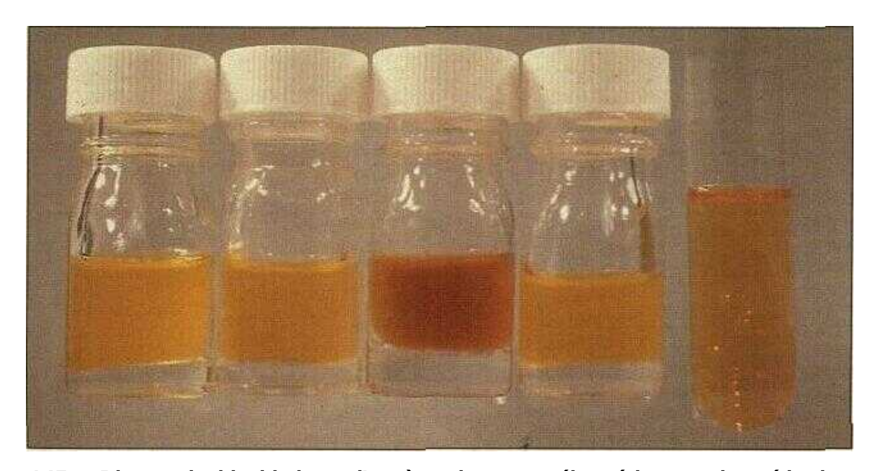
142 ***Corynebacterium diphteriae,*** **biotype mih's.** Gros plan montrant de petites colonies a centre noir *(Gélose au sang et tellunte* 48 *h a 37 °C}* "'••



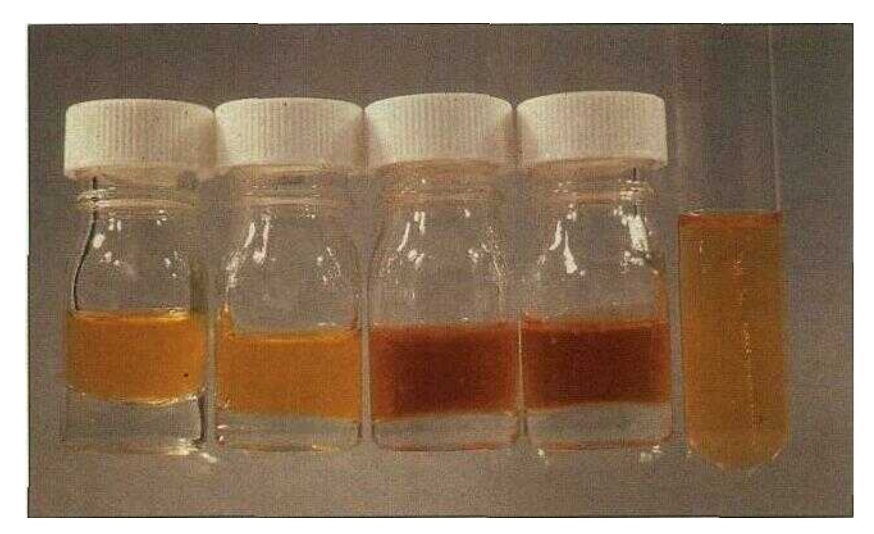
143 ***Corynebacterium hofmannii.*** Gros plan des colonies a 1 aspect conique surélevé *(Gélose au sang et tellunte 24 h a 37 °C}*



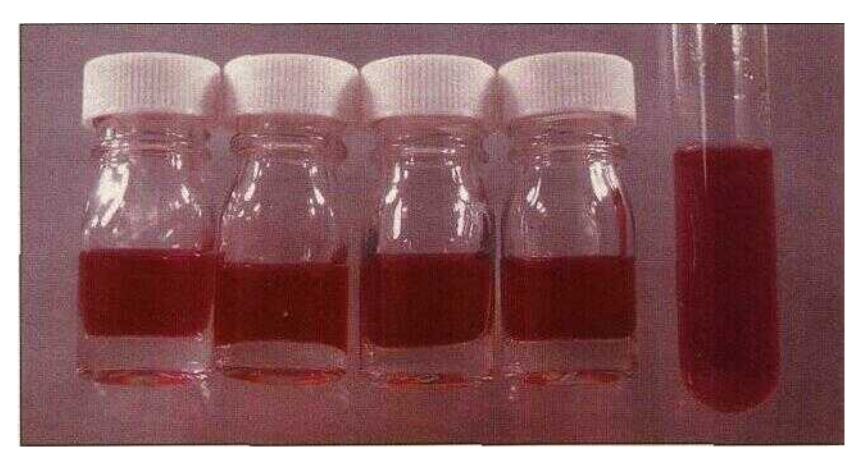
144 Test d'Elek démontrant la toxinogenèse chez *Corynebacterium diphteriae.* Une bande de papier filtre contenant de l'antitoxine diphtérique est placée sur une boîte de Pétri puis le milieu est coule La souche testée et deux souches indicatrices, l'une toxinogene et l'autre non sont ensemencées a angle droit de la bande Une souche toxinogene induit une précipitation en forme de V entre la toxine et l'antitoxine *(Milieu d'Elek, 48 h a 37 °C]*



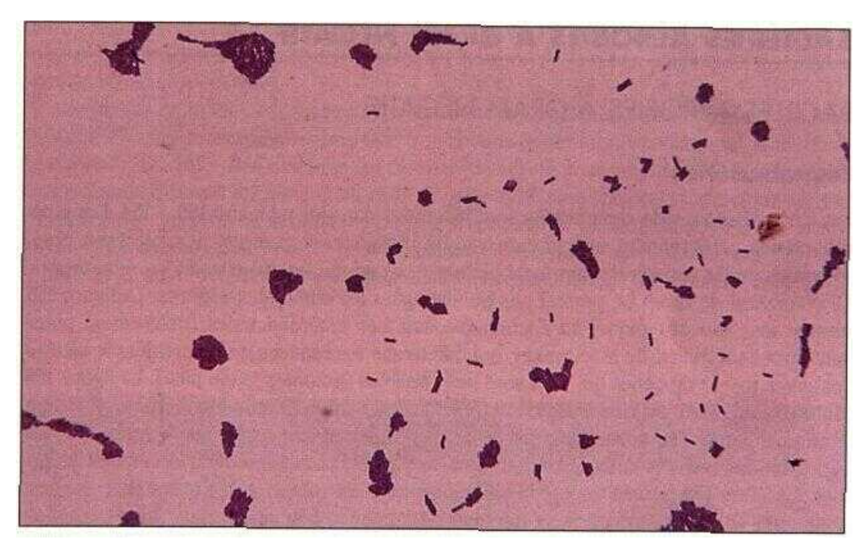
145 Diagnostic biochimique d'espèce des corynébactéries par la méthode de Hiss. Les tubes contiennent de gauche a droite, du glucose, du maltose, du sucrose, de l'amidon et de l'urée C *diphteriae gravis* acidifie le glucose, le maltose et l'amidon *(Milieu de Hiss avec différents sucres, rouge de phénol, 24 h a 37 °Q*



146 Diagnostic biochimique d'espèce des corynébactéries par la méthode de Hiss. C. *diphteriae mitis* acidifie le glucose et le maltose. *(Milieu de Hiss avec différents sucres, rouge de phénol, 24 h à 37 °C)*



147 Diagnostic biochimique d'espèce des corynébactéries par la méthode de Hiss. C. hofmannii, commensal de la gorge, ne fermente pas les sucres, mais produit une uréase. *(Milieu de Hiss avec différents sucres, rouge de phénol, 24 h à 37 °C)*



148 Coloration de Gram de lactobacille. Les lactobacilles sont de grands bacilles à Gram positif, isolés ou en chaînettes. Ils font partie de la flore vaginale normale. *(Gram, x1000j*

149 Culture de lactobacille sur gélose au sang. Les lactobacilles poussent mieux en atmosphère enrichie à 5% de CO_2, et forment de petites colonies claires. *(Gélose au sang, 18 h à 37 "Ci*

BACTÉRIES AÉROBIES À GRAM NÉGATIF

BACILLES AÉROBIES À GRAM **NEGATIF**

Entérobactéries

Les caractéristiques de cette famille sont résumées dans les tableaux 150 à 154. Les entérobactéries comprennent une grande variété d'espèces y compris des bactéries commensales de l'intestin et d'importants pathogènes comme les shigelles et les salmonelles. La coloration de Gram ne permet pas de distinguer les différentes espèces. La figure 155 montre leur aspect typique, ici *Escherichia coll.* Les entérobactéries (conformes) poussent toutes sur milieu de MacConkey qui différencie les espèces qui fermentent le lactose (colonies rosés) de celles qui n'en sont pas capables (colonies jaune pâle). La figure 156 montre une culture de £. *coli* (fermentant le lactose) sur milieu de MacConkey, alors que *Proteus mirabilis* (ne fermentant pas le lactose) apparaît jaune pâle sur la figure 157. La figure 158 montre des colonies muqueuses de *Klebsiella pneumoniae,* fermentant le lactose. La figure 159 permet de voir la différence entre un coliforme (colonies plus grandes, bleuâtres) et un staphylocoque (colonies plus petites, blanches), dans un échantillon d'urine ensemencé sur milieu cystine-lactose déficient en électrolytes (CLED). Un milieu de MacConkey contenant du sorbitol à la place du lactose est utilisé pour différencier le sérotype 0157 de *E. coli,* responsable de colites hémorragiques, des autres colibacilles. *E. coli* 0157 ne fermente pas le sorbitol et forme donc des colonies pâles sur ce milieu (160 et 161). Les *Proteus* produisent un « nappage » caractéristique sur gélose au sang (162). La figure 163 montre une culture de £. co/;' (fermentant le lactose) et de *Shigella* sonne; (ne fermentant pas le lactose) sur milieu de MacConkey. Des milieux plus sélectifs tels que le milieu xylose-lysine-désoxycholate (XLD) peuvent être utilisés pour isoler les shigelles et les salmonelles d'échantillons de selles (164, 165). Parmi les autres milieux sélectifs de ces espèces, on peut citer les géloses salmonelle-shigelle (SS) (166) et désoxycholate-citrate (DCA) (167).

Un grand nombre de réactions de fermentation des sucres et autres tests biochimiques permettent de différencier les entérobactéries. Des exemples de fermentation des sucres en eau peptonée sont présentés sur les figures 168 à 172. La figure 173 montre la production d'indole qui permet de distinguer *E. coli* de *K. pneumoniae.* Les figures 174 à 178 montrent d'autres réactions biochimiques discriminantes. Des combinaisons de ces réactions sont maintenant disponibles dans de nombreux systèmes du commerce (ex. galeries API, 179 et 180).

Là où les moyens sont limités, en particulier dans les pays en voie de développement, la caractérisation biochimique peut se faire à l'aide de milieux composites peu onéreux. Parmi eux, le milieu de Kligler (181 à 183) et le milieu urée-indole-mobilité (184 à 186) sont utilisés pour différencier les shigelles et salmonelles pathogènes des autres entérobactéries. Dans le genre *Salmonella* se trouvent les agents des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, ainsi qu'un grand nombre de sérotypes responsables d'infections intestinales moins sévères. Les sérotypes se distinguent par leur antigène 0 (somatique) et H (flagel-

laire), selon le système de typage de Kauffman et White. La figure 187 montre une réaction d'agglutination sur lame pour déterminer le sérotype 0 d'une salmonelle en utilisant des antisérums spécifiques.

Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes peuvent être également diagnostiquées en identifiant les anticorps spécifiques anti-0 et anti-H dans le sérum du patient, par la méthode de Widal (188, 189). Des dilutions successives de sérum sont incubées avec des suspensions standardisées d'antigène 0 ou H de *S. typhi* ou *S paratyphi* et l'on détermine le titre le plus élevé (inverse de la dilution) pour la floculation H et l'agglutination 0. On trouve aussi chez les entérobactéries le genre *Yersinia*, comprenant l'agent de la peste, *Y. pestis* (190), et *Y. enterocolitica*, responsable d'adénite mésentérique et d'entérocolite (191).

Entérobactéries
Infections

Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Escherichia					
E. coli	infections urinaires et de plaie, septicémies, méningite néonatale	gastroentérites (certains sérotypes)	—	—	—
Klebsiella					
K. oxytoca	infections urinaires,	septicémies	—	—	—
K. pneumoniae	infections urinaires, pneumopathies				
Enterobacter					
E. cloacae	infections urinaires et de plaie	septicémies	—	—	—
E. aerogenes			—	—	—
Shigella					
S. dysenteriae	dysenterie bacillaire†	—	—	3 à 4 jours	} 1 à 4 semaines
S. flexneri	gastroentérites	—	—	"	
S. boydii	gastroentérites	—	—	"	
S. sonnei	gastroentérites	—	—	"	
Salmonella					
S. typhi	fièvre typhoïde	ostéomyélites	+	7 à 21 jours	varie de 5 à 21 jours; il existe des sujets porteurs au long cours
S. paratyphi A	fièvres paratyphoïdes		±	7 à 21 jours	
S. paratyphi B	fièvres paratyphoïdes	septicémies	±	7 à 21 jours	
*S. typhimurium**	gastroentérites	ostéomyélites	-	1 à 3 jours	

† Dysenterie bacillaire ne s'applique qu'à l'infection par le bacille de Shiga (*S. dysenteriae* sérotype 1), NdT.
* *S. typhimurium* est pris comme exemple des salmonelles entériques, non-typhi.

150 Entérobactéries. Infections.

Entérobactéries Infections					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Citrobacter					
C. freundii	infections urinaires et de plaie	septicémies	-	-	-
Edwardsiella					
E. tarda	infections de plaie		-	-	-
Serratia					
S. marcescens	infections de plaie	septicémies	-	-	-
Hafnia		rares infections			
H. alvei	-	urinaires, septicémies	-	-	-
Proteus					
P. mirabilis	infections urinaires et de plaie	septicémies	-	-	-
P. vulgaris	" "		-	-	-
Providencia					
P. stuartii	infections urinaires, de brûlures		-	-	-
Morganella					
M. morganii	infections urinaires	septicémies	-	-	-
Yersinia					
Y. enterocolitica	gastroentérites		-	-	-
Y. pseudotuberculosis	adénites mésentériques	septicémies	-	-	-
Y. pestis	peste bubonique	pneumopathies	vaccin tué	1 à 6 jours	voir **153**

151 Entéroboctéries. Infections

Entérobactéries Sources et modes de transmission								
	Réservoir			Transmission				
Organisme	Homme	Animal	Env.	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Escherichia coli	+	+	+	+	-	+	+	
Klebsiella oxytoca	+	-	+	-	-	+	+	
K. pneumoniae	+	-	+	-	+	+	+	
Enterobacter cloacae	+	-	+	-	-	+	+	
E. aerogenes	+	-	+	-	-	+	+	Certaines souches multirésistantes ont une diffusion épidémique
Shigella dysenteriae	+	-	-	+	-	-	-	
S. flexneri	+	-	-	+	-	-	-	
S. boydii	+	-	-	+	-	-	-	
S. sonnei	+	-	-	+	-	-	-	
Salmonella typhi	+	-	-	+	-	-	-	
S. paratyphi A	+	-	-	+	-	-	-	
S. paratyphi B	+	+	-	+	-	-	-	
S. typhimurium	+	+	-	+	-	-	-	

152 Entérobactéries. Sources et modes de transmission

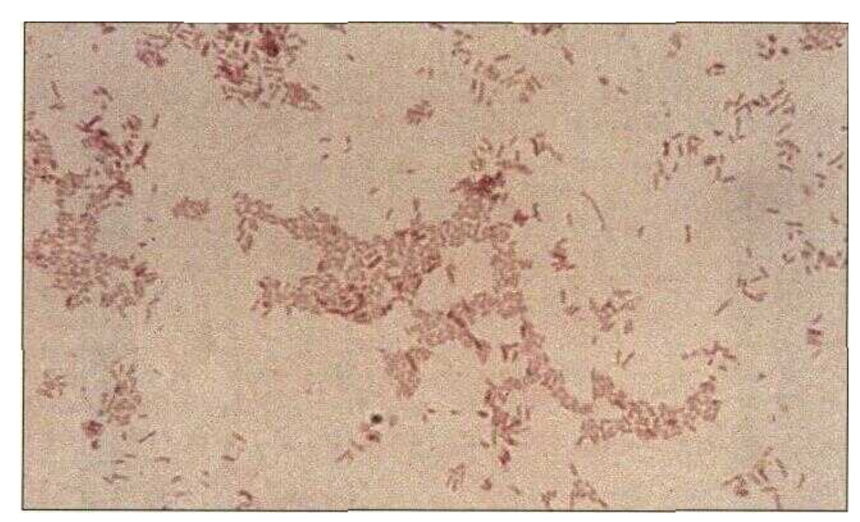
Entérobactéries Sources et modes de transmission									
	Réservoir			Transmission					
Organisme	Homme	Animal	Env.	Insecte	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Citrobacter freundii	+	-	+	-	-	-	+	+	
Edwardsiella tarda	+		+	-	-	-	+	+	
Serratia marcescens	+	-	+	-	-	-	+	+	
Hania alvei	+	-	+	-	-	-	+	+	
Proteus mirabilis	+	-	+	-	-	-	+	+	
P. vulgaris	+	-	+	-	-	-	+	+	
Providencia stuartii	+	-	+	-	-	-	+	+	
Morganella morganii	+	-	+	-	-	-	+	+	
Yersinia enterocolitica	+	+	-	-	+	-	-	-	
Y. pseudotuberculosis	+	+	-	-	+	-	-	-	
Y. pestis	-	+	-	+	-	+	-	-	Forme pulmonaire directement transmissible

153 **Entérobactéries.** Sources et modes de transmission

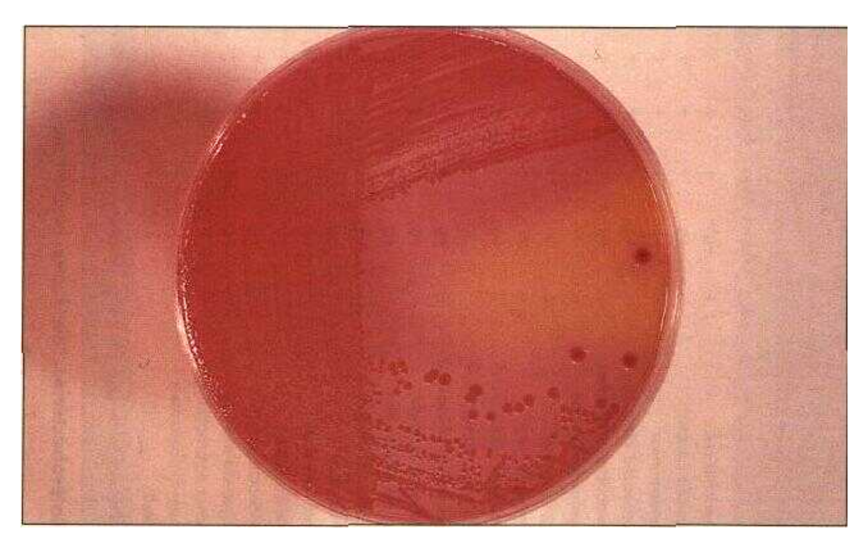
Entérobactéries Caractères biochimiques	Lac	Gluc	Man	Suc	Cit	Dulc	Ind	Uréase	Mobilité	H_2S	MR[b]	VP[c]	PDA[d]	NO_3
Escherichia coli	+	+g[a]	+	±	−	±	+	−	+	−	+	−	−	+
Klebsiella oxytoca	+	+g	+	+	+	±	+	+	−	−	−	+	−	+
K. pneumoniae	+	+g	+	+	+	±	−	+	−	−	−	+	−	+
Enterobacter cloacae	+	+g	+	+	+	−	−	±	+	−	−	+	−	+
Enterobacter aerogenes	+	+g	+	+	+	−	−	−	+	−	−	+	−	+
Shigella dysenteriae	−	+	+	−	−	−	±	−	−	−	+	−	−	+
Shigella sonnei	±	+	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+
Salmonella typhi	−	+	+	−	−	−	−	−	+	+	+	−	−	+
Salmonella paratyphi A	−	+g	+	−	−	+	−	−	+	−	+	−	−	+
Salmonella paratyphi B	−	?	+	−				−	+		+	−	−	+
Salmonella typhimurium	−	+g	+	−	+	+	−	−	+	+	+	−	−	+
Citrobacter freundii	−	+g	+	±	+	±	−	±	+	+	+	−	−	+
Edwardsiella tarda	−	+g	−	−	−	−	+	−	+	+	+	−	−	+
Serratia marcescens	−	±/g	+	+	+	−	−	−	+	−	−	+	−	+
Hafnia alvei	−	+g	+	−	−	−	−	−	+	−	±	+	−	+
Proteus mirabilis	−	+g	−	±	±	−	−	+	+	+	+	±	+	+
Proteus vulgaris	−	+g	−	+	±	−	+	+	+	+	+	−	+	+
Providencia stuartii	−	+g	−	±	+	−	+	±	+	−	+	−	+	+
Morganella morganii	−	+g	−	−	−	−	+	+	+	−	+	−	+	+
Yersinia enterocolitica	−	+	+	+	−	−	±	±	−	−	+	−	−	+
Y. pseudotuberculosis	−	+	+	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	+
Y. pestis	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+

(a) Production de gaz. (b) Rouge de méthyle. (c) Voges-Proskauer. (d) Phénylalanine désaminase.

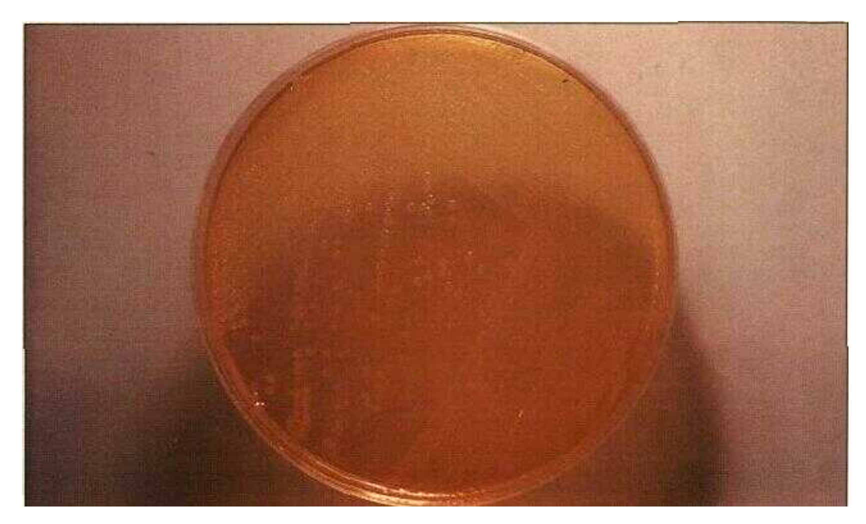
154 Entérobactéries. Identification biochimique.



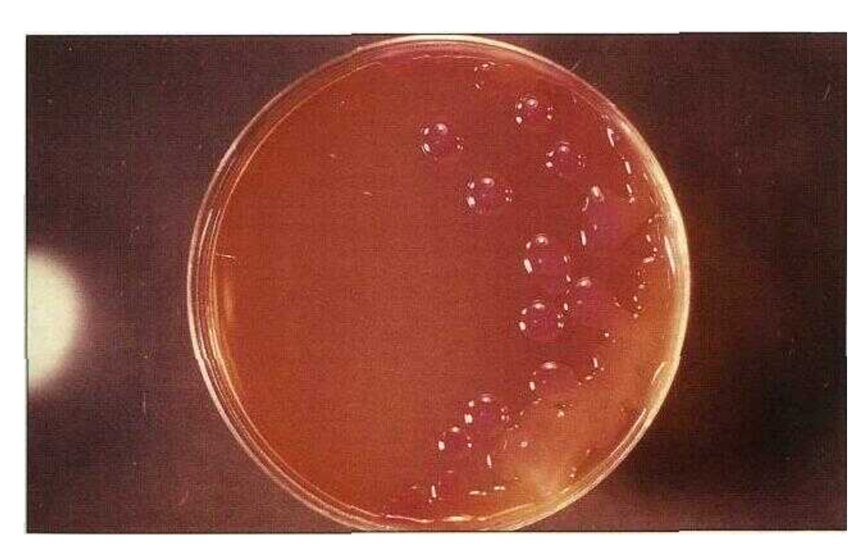
155 ***Escherichia coli,* coloration de Gram.** La coloration montre les bacilles à Gram négatif typiques des *Enterobacteriaceae* La plupart ont une morphologie identique, et ne peuvent être différenciés par la coloration de Gram *(Grain, x1000)*



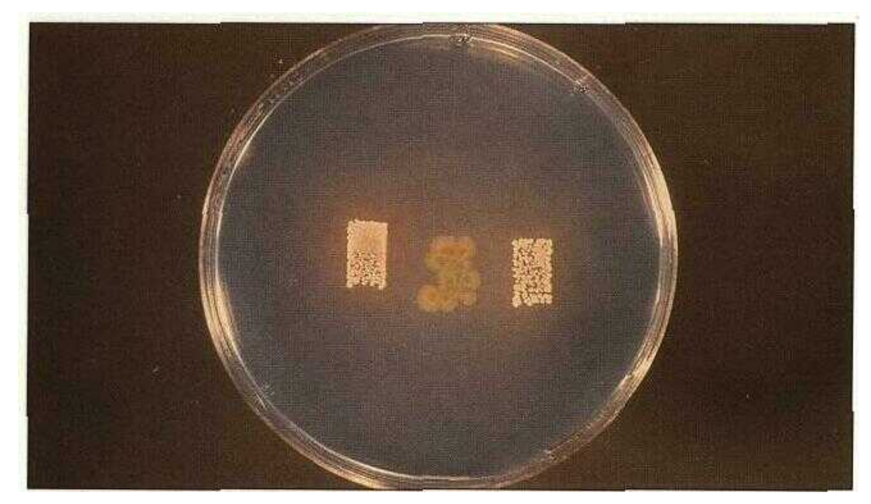
156 ***Escherichia coli sur* milieu de MacConkey.** £ co/i forme des colonies rosés fermentant le lactose Le milieu de MacConkey est sélectif des bactéries enténques, et contient des sels biliaires, du lactose et un indicateur de pH, le rouge neutre Les colonies fermentant le lactose produisent des acides et colorent l'indicateur en rouge *(Gélose* de *MacConkey, 18 h à 37 °C)*



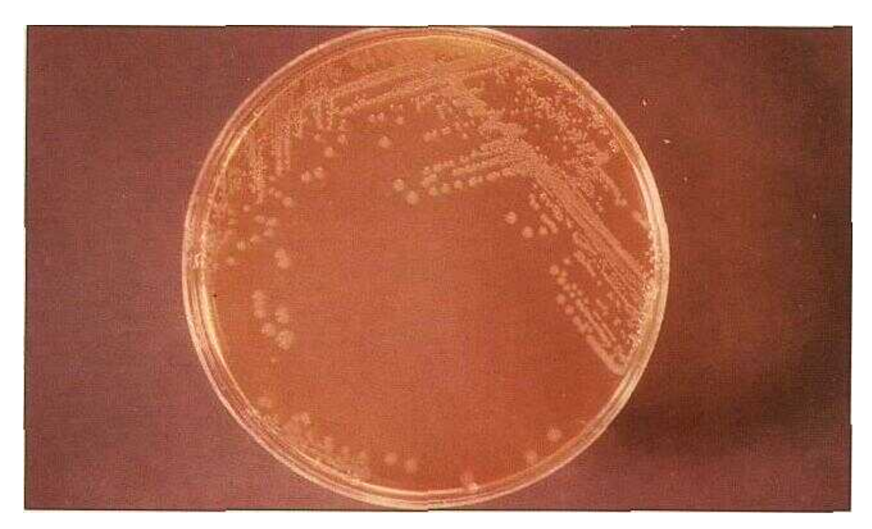
157 Profeus *mirabilis* sur milieu de MacConkey. P *mirabilis ne* fermente pas le lactose et forme des colonies claires *(Gélose de MacConkey, 18 h à 37 °C)*



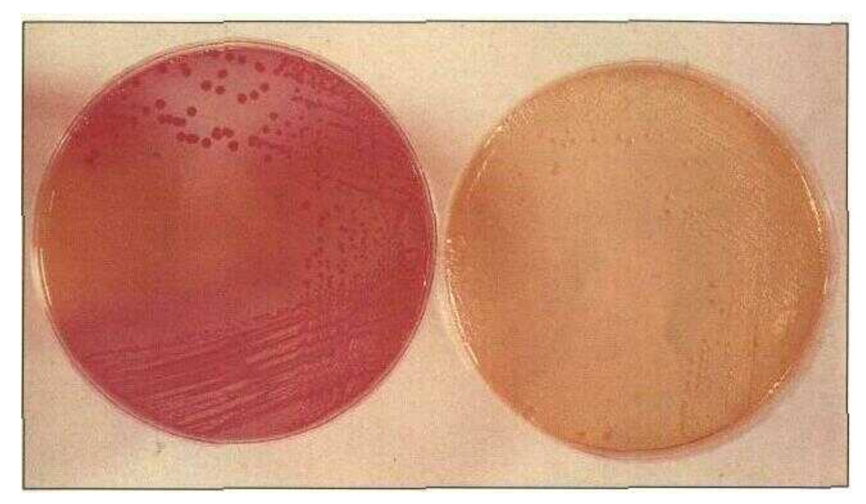
158 *Klebsiella pneumoniae sur* milieu de MacConkey. *K pneumomae* Fermente le lactose et forme des colonies muqueuses rosés *(Gélose de MacConkey, 18hà37°C)*



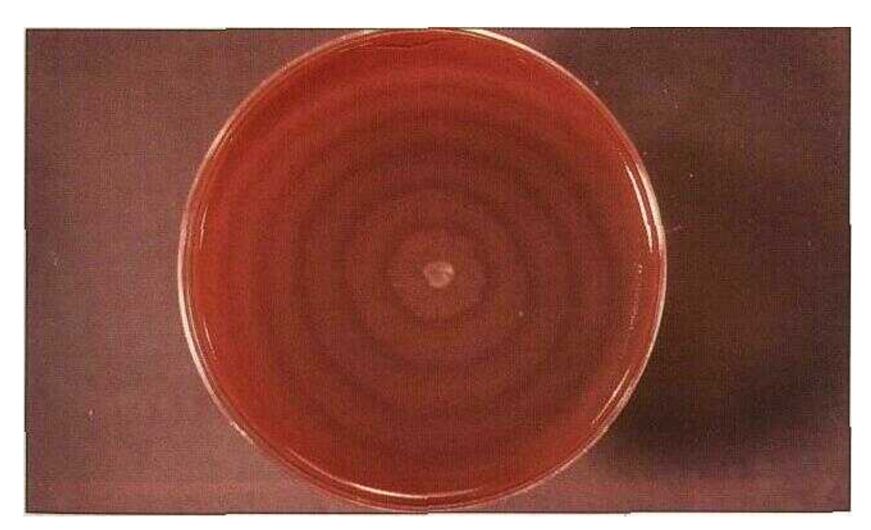
159 ***Estherichia coli*** **et** ***Staphylococcus epidermidis*** **sur milieu CLED.** La gélose cystine-lactose déficiente en électrolytes (CLED) est utilisée comme milieu sélectif pour les échantillons d'urine *E coli* forme de grosses colonies bleuâtres, S. *epidermidis* forme de petites colonies blanches. *(Gélose cystine-lactose déficiente en électrolytes, 18 h à 37 °C)*



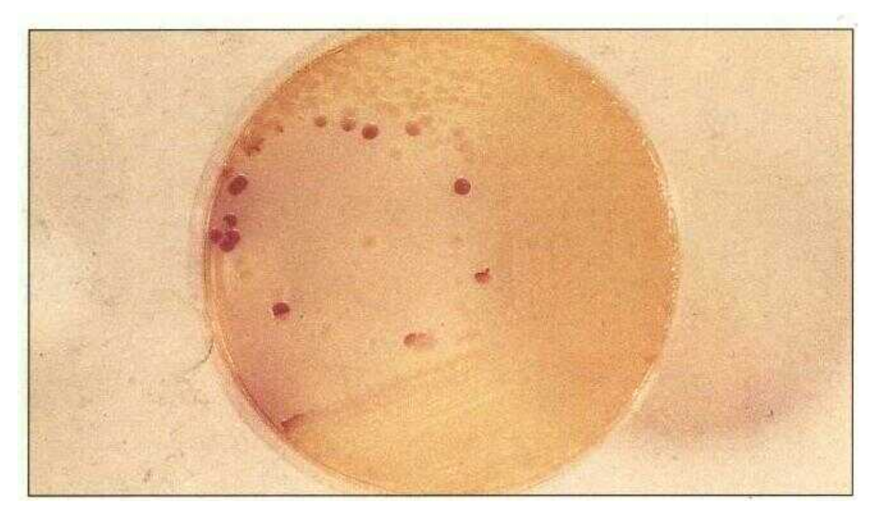
160 ***Escherichia coli*** **0157 sur milieu de MacConkey au sorbitol.** Le sérotype 0157 est un pathogène important responsable de colite hémorragique et de syndrome hémolytique urémique. Il ne fermente pas le sorbitol, et forme des colonies claires sur un milieu de MacConkey dans lequel le lactose a été remplacé par le sorbitol *(Gélose de MacConkey au sorbifol, 18 h à 37 °C;*



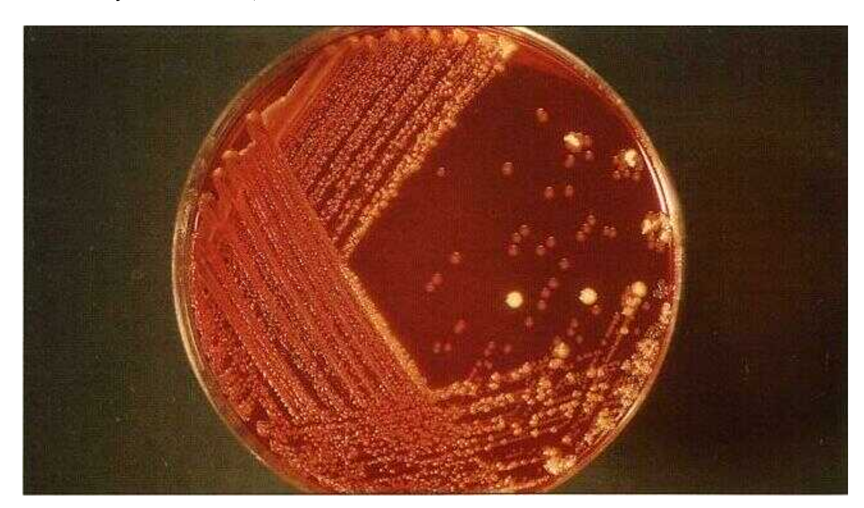
161 E. co/i 0157 sur milieu de MacConkey et milieu de MacConkey au sorbitol. £ *coli* 0157 fermente le lactose et forme des colonies rosés sur milieu de MacConkey standard (à gauche), comparées aux colonies ne fermentant pas le sorbitol sur le milieu sélectif (à droite) *(Géloses de MacConkey et MacConkey au sorbifol, 18 h à 37 °C}*



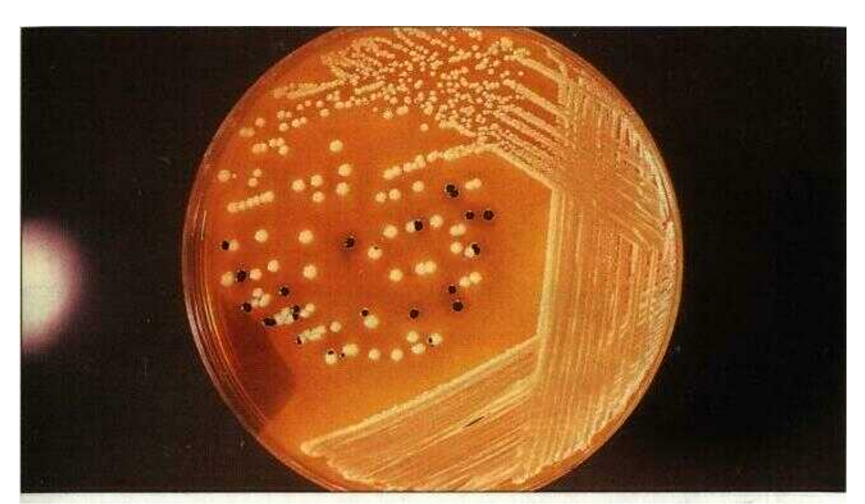
162 *Proteus mirabilis* sur gélose au sang. P *mirabilis* pousse en nappe, masquant souvent les autres bactéries dans les cultures mixtes. *(Gélose au sang, 18 h à 37 °C]*



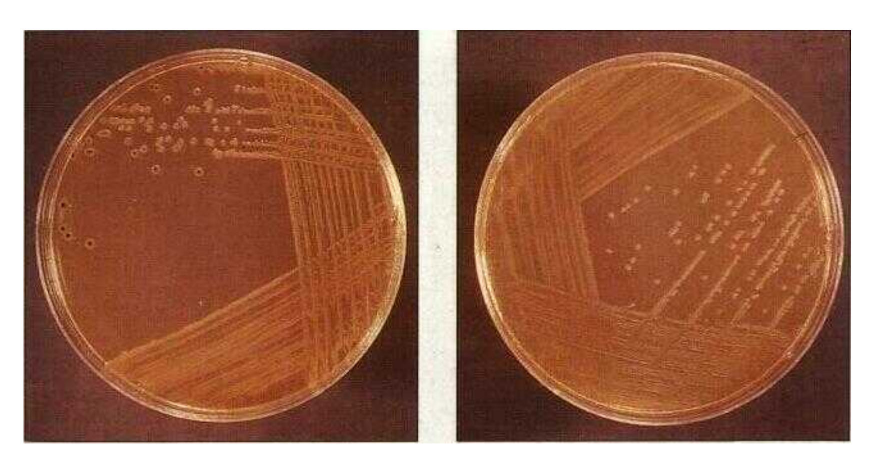
163 *Escherichia coli* et *Shigella sonnei* sur milieu de MacConkey. Les colonies de S *sonne!* sont claires, ne fermentant pas le lactose, avec souvent une bordure ondulée caractéristique *E coli* forme des colonies typiques, rosés, fermentant le lactose. *(Gélose de MacConkey, 18 h à 37 °C)*



164 *Shigella sonnei* et *Escherichia coli sur* milieu xylose-lysine-désoxycholate (XLD). Ce milieu sélectif permet l'isolement des shigelles et des salmonelles à partir d'échantillons de selles. Il contient un indicateur, le rouge de phénol, rouge à pH alcalin et jaune à pH acide. Les colonies de shigelles sont rouges car elles ne fermentent pas le xylose; *E. coli* forme des colonies jaune clair. *(Gélose xylose-lysine-désoxycholate, 18 h à 37 °C)*



165 *Salmonella enteritidis* et *Escherichia coli* sur milieu XLD. Les colonies de salmonelles sont rouges à centre noir en raison de la production d'H_2S. Les colonies de E co/i sont jaunes *(Milieu XLD, 18 h à 37 °Q*



166,167 *Salmonella enterifidis* sur géloses SS (166) et DCA (167). Les milieux SS (salmonelle-shigelle) et DCA (gélose désoxycholate-citrate) ,sont sélectifs pour l'isolement de ces pathogènes à partir des selles. Sur les deux, les salmonelles forment des colonies claires, ne fermentant pas le lactose. *(Géloses SS et DCA, 18 h à 37 °C)*

168-172 Réactions des sucres en eau peptonée des entérobactéries. Une série de tubes d'eau peptonée contenant différents sucres (glucose, mannitol, lactose, sucrose, dulcitol) ou de l'urée peuvent être utilisés pour différencier biochimiquement les entérobactéries. La production d'acide fait virer l'indicateur au rouge, et la production de gaz est mise en évidence par les bulles dans le petit tube renversé. *(Sucres en eau peptonée, indicateur d'Andrade, 24 h à 37 °C)*

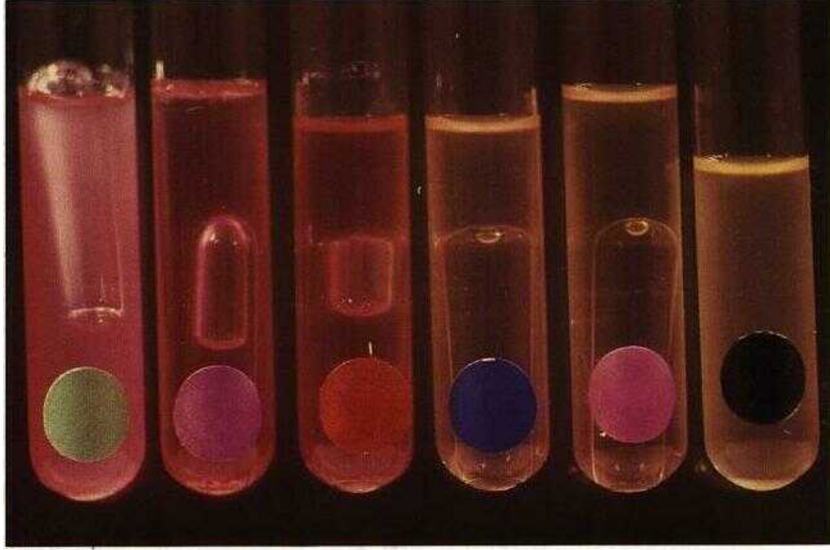
169 *Escherichia coli*
170 *Shigella sonnei.*
171 *Salmonella typhimurium.*
172 *Profeus mirabilis.*

Réactions des sucres en eau peptonée

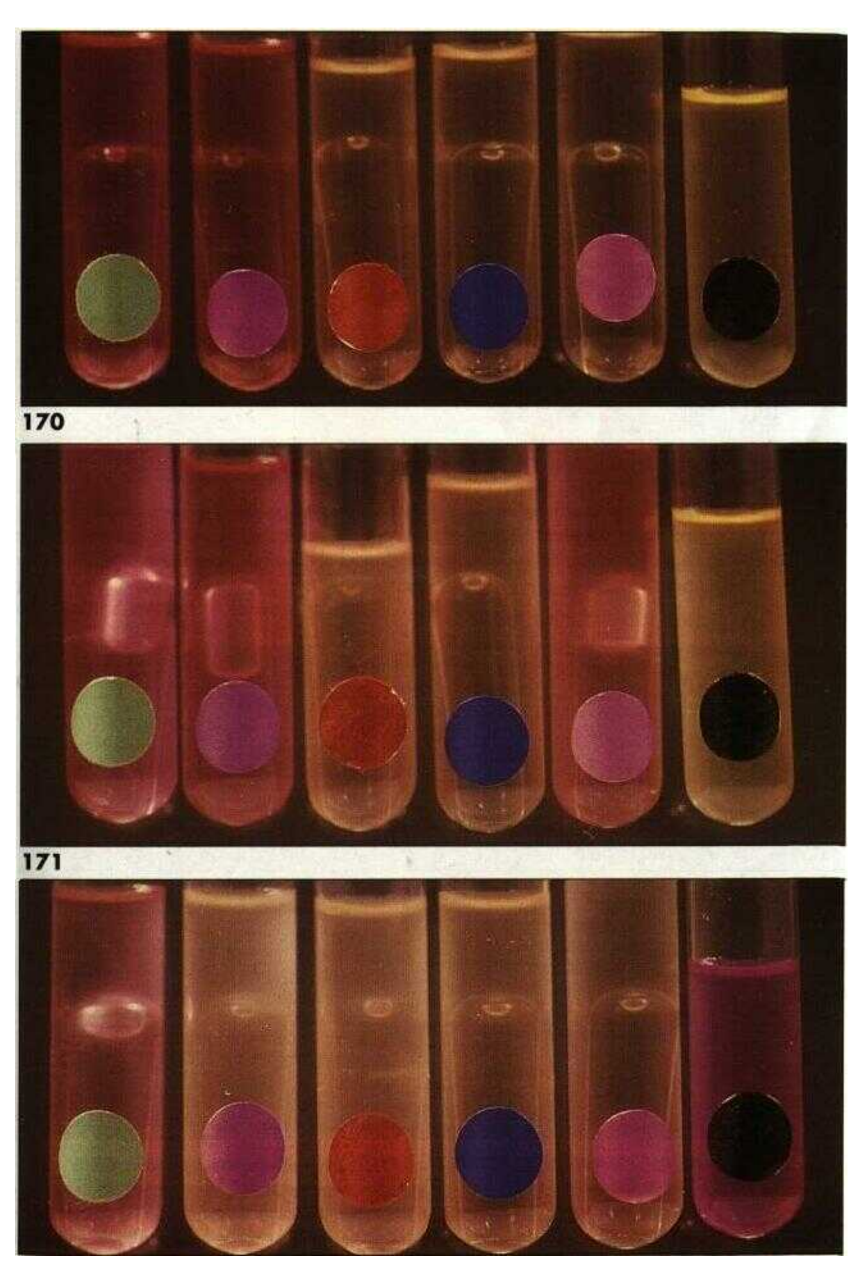
Code :	glucose vert	mannitol violet	lactose rouge	sucrose bleu	dulcitol rose	urée noir
Escherichia coli	AG	AG	AG	--	--	-
Shigella sonnei	A-	A-	--	--	--	-
Salmonella typhimurium	AG	AG	--	--	AG	-
Proteus mirabilis	AG	--	--	--	--	+

A = acidification (rose) G = production de gaz (bulles dans le petit tube renversé)

168



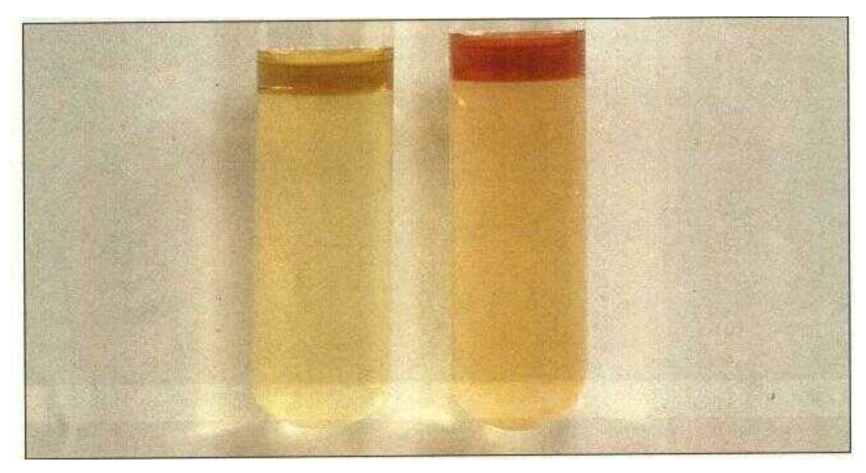
169



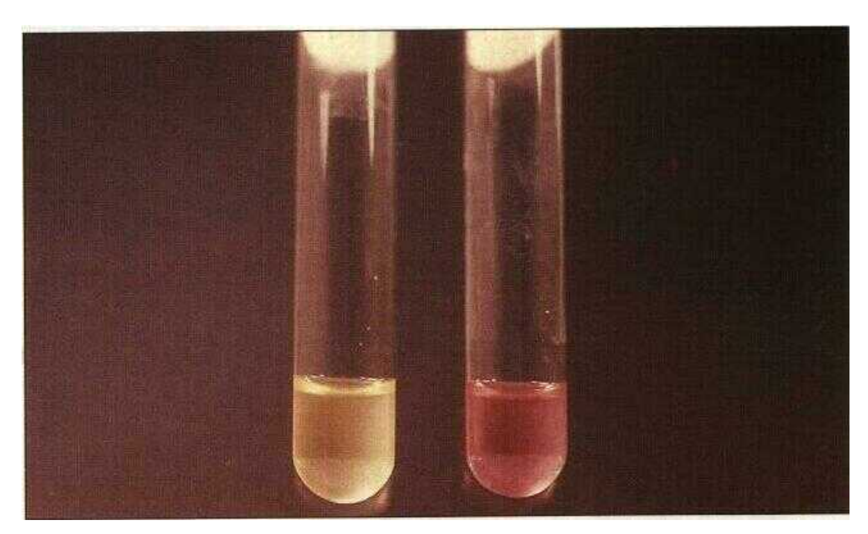
170

171

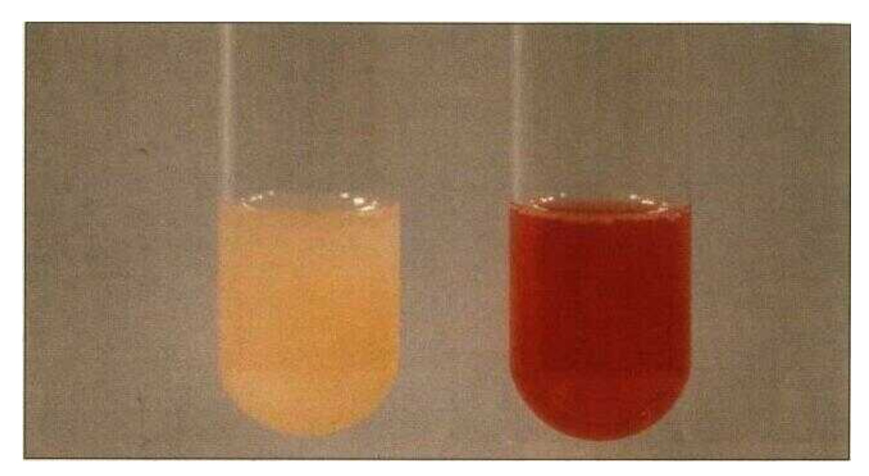
172



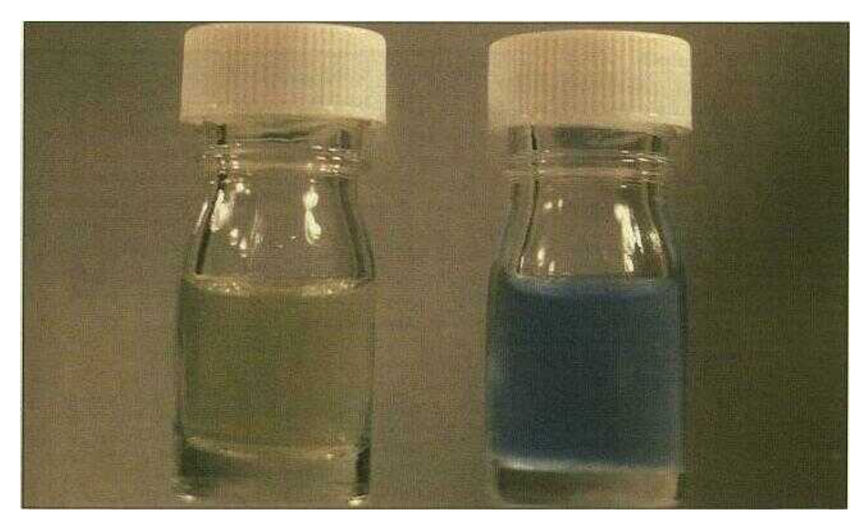
173 Réaction d'indole en tube. Certaines bactéries hydrolysent le tryptophane en indole, qui réagit avec le réactif de Kovacs en donnant une coloration rouge. £. co/i" est indole positive (droite), *K pneumoniae* est indole négative (gauche). *(Eau peptonée, 24 h à 37 °C)*



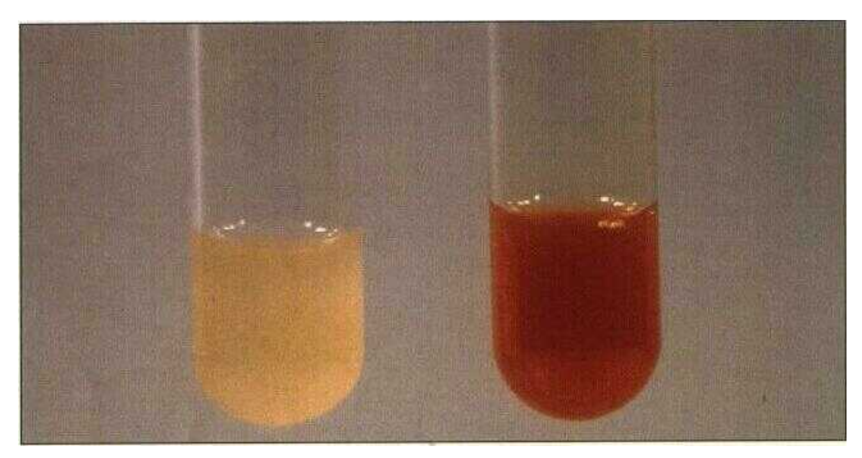
174 Réaction au rouge de méthyle. Les entérobactéries peuvent plus ou moins abaisser le pH d'un milieu par fermentation du glucose Avec le rouge de méthyle, seules les espèces capables d'abaisser le pH à des valeurs proches de 5 font virer l'indicateur au rouge. E co/i est rouge de méthyle positif (droite), Enterobacter *cloacae* est rouge de méthyle négatif (gauche). *(Glucose phosphate en eau peptonée, 24 h à 37 °Q*



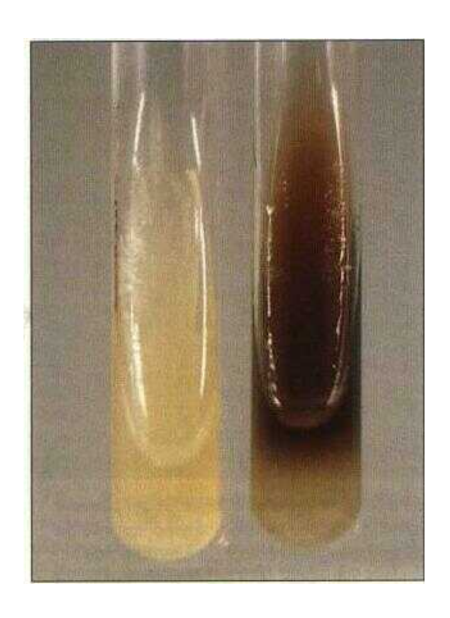
175 Réaction de Voges-Proskauer (VP). Certaines entérobactéries fermentent le glucose en produisant de l'acétylméthylcarbinol, qui est oxydé et reagit avec l'a-naphtol en donnant une coloration rouge Enterobacter aerogenes est VP positif (droite), E. *col!* est VP négatif (gauche). *(Glucose phosphate en eau peptonée , 48h à 37 °C, ajout de potasse et d'a-naphlol, et lecture au bout de 5 min)*



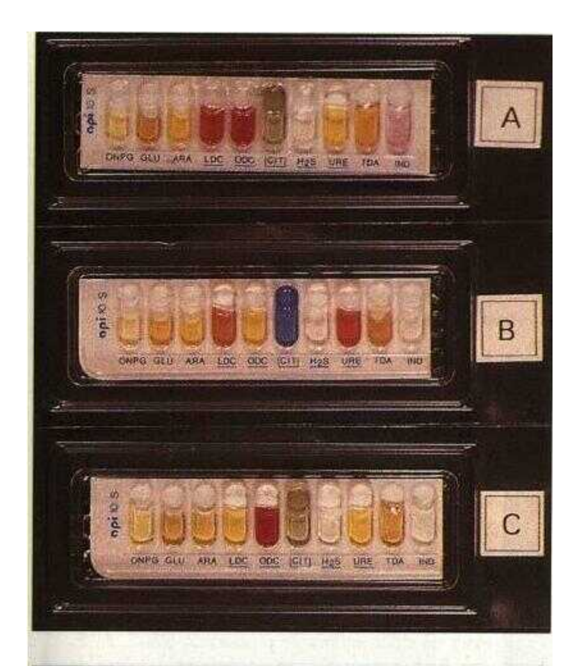
176 Milieu au citrate de Simmons. Permet de distinguer les entérobactéries qui peuvent utiliser le citrate comme seule source carbonée. L'indicateur est le bleu de bromothymol qui vire du vert au bleu au cours de cette réaction alcaline. *Citrobacfer freundii* est citrate de Simmons positif (à droite), E. co/iest négatif (à gauche). *(Milieu au citrate de Simmons, 18 h à 37 °C]*



177 Réduction des nitrates. Le germe à étudier est incubé dans un bouillon contenant des ions nitrate Au bout de 4 h, on met en évidence la réduction des nitrates en nitrites par réaction avec l'acide sulfanilique et l'alpha-naphtylamine, qui donne une coloration rouge. Réaction positive *E. coli* (à droite); réaction négative : *P aeruginosa* (à gauche). *(Bouillon nitrate, 4 h à 37 °C)*



178 Réaction de désamination de la phénylalanine. Certaines entérobactéries *(Proteus, Providenciaf* produisent, à partir de phénylalanine, de l'acide phényipyruvique, qui se colore en brun-vert en présence de chlorure ferrique Réaction positive : *Proteus mirabilis* (à droite), réaction négative : £. *co/i* (à gauche). *(Gélose à la phénylalanine, 18 h à 37 °C, puis quatre gouttes de chlorure ferrique à 10%, coloration observée après 5 min)*



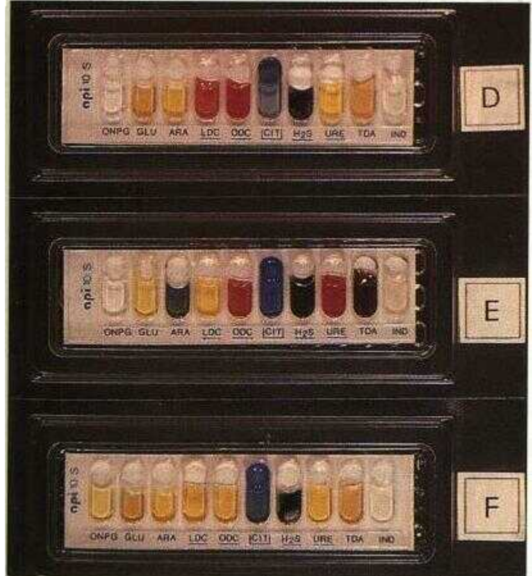
179 Galerie API 10S pour entérobactéries. Ces galeries contiennent des réactifs déshydratés dans des cupules, auxquels on ajoute une suspension du germe à étudier La galerie est alors incubée pendant la nuit, et les réactions lues. Cette méthode permet de traiter rapidement un grand nombre de souches Les tests sont, de gauche à droite, ONPG, GLU, ARA, LDC, ODC, CIT, H_2S, URÉE, TDA, INDOLE (la présence d'une nitrate réductase peut être révélée dans la cupule GLU, *Nd1]*

A *Escherichia coli*

B *Klebsiella pneumoniae*

C *Shigella* sonne/

(Galeries API 10S, 18 h à 37 °Q



180 Galerie API 10S (suite).

D *Salmonella lyphimurium*

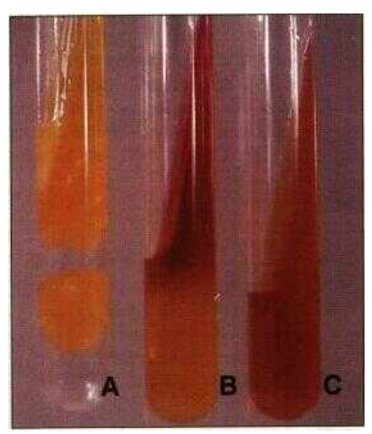
E *Profeus mirabilis*

F *Ctrobacter freundii*

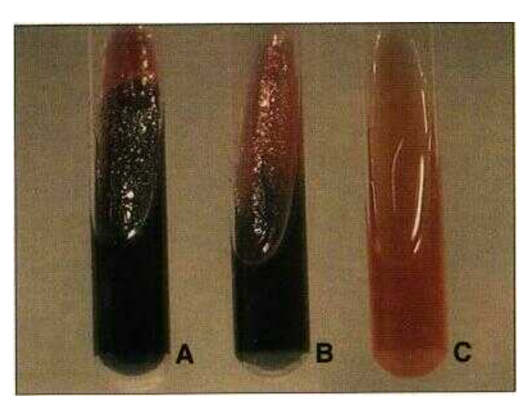
(Galeries API 10S, 18 h à 37 °C)

Réactions en milieu de Kligler (KIA)				
	Culot (fermentation du glucose si jaune)	Pente (fermentation du lactose si jaune)	Production de gaz	Production d'H_2S
Avant culture	rose	rose	–	–
Escherichia coli	jaune	jaune	+	–
Shigella sonnei	jaune	rose	–	–
Salmonella enteritidis	jaune/noir	rose/noir	+/–	+
Proteus mirabilis	jaune/noir	rose/noir	+	+

181 **Réactions en milieu de Kligler.**



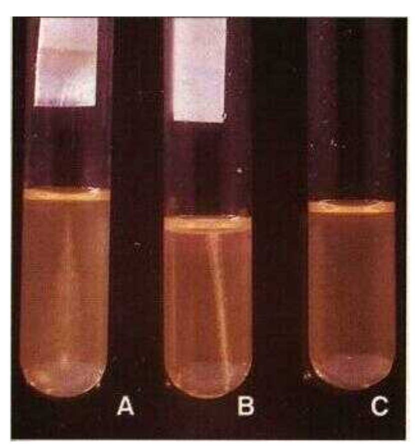
182 **Réactions des entérobactéries en milieu de Kligler.** Le milieu de Kligler est un milieu composite contenant du glucose, du lactose, du rouge de phénol et du citrate de fer. Un culot jaune indique la fermentation du glucose; un culot et une pente jaunes indiquent la fermentation du glucose et du lactose. Des bulles indiquent la production de gaz à partir du glucose. Un noircissement du culot indique la production **d'Hyi.** A, E. co/i; B, 5. sonne;; C, non ensemencé. *(Gélose de Kligler, 18 h à 37 °C)*



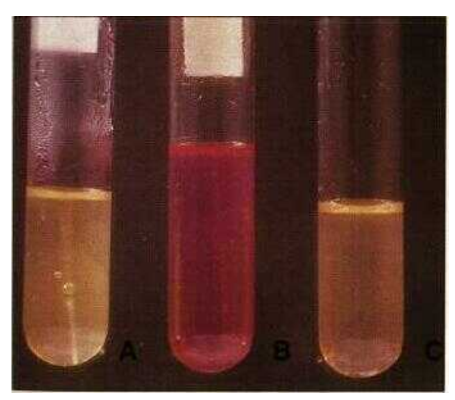
183 **Milieu de Kligler. A,** 5. *enferitidis;* **B,** *Proteus mirabilis; C, non* ensemencé. *(Gélose de Kligler, 18 h à 37 "Ci*

Réactions en milieu urée-indole-mobilité			
	Mobilité	Indole	Uréase
Escherichia coli	+	+	–
Shigella sonnei	–	+/–	–
Salmonella enteritidis	+	–	–
Proteus mirabilis	+	–	+

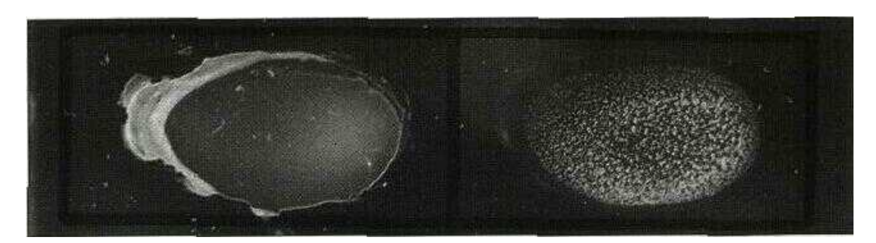
184 Réactions en milieu urée-indole-mobilité.



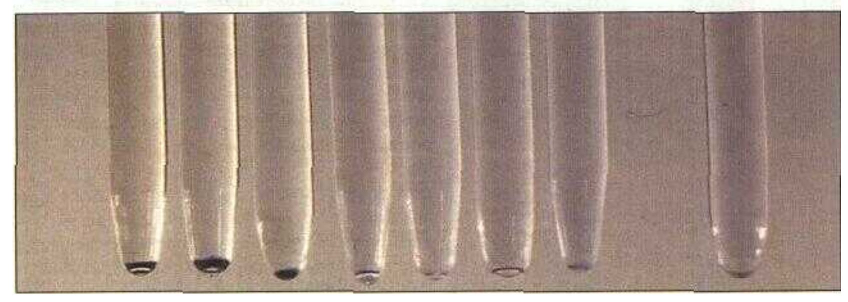
185 Réactions des entérobactéries en milieu urée-indole-mobilité. C'est un milieu composite contenant du tryptophane, du rouge de phénol, de l'urée et une bande de papier imbibée de réactif de Kovacs. Il est ensemencé en son centre, à l'aide d'une tige rigide. Les germes immobiles (ex. shigelles) poussent seulement le long de la strie d'inoculation, mais les bactéries mobiles (ex. la plupart des salmonelles) poussent en troublant tout le milieu Les germes uréase positive (ex. *Proteus)* font virer le milieu au rouge. Ceux qui sont producteurs d'indole (ex *E. coli)* colorent le papier en rouge. **A,** E. co/i; **B,** S. *sonnei;* **C,** non ensemencé. *(Milieu* **urée-indole-mobi-** *lilé, 18hà37°CI*



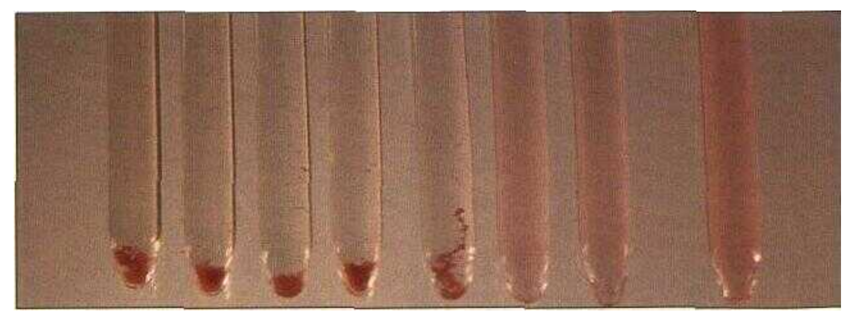
186 Réactions des entérobactéries en milieu urée-indole-mobilité. A, S. enterih'dts; B, *Proteus mirabilis;* ***C,*** non ensemencé. *(Milieu urée-indole-mobilité, 18 h à 37 "Ci*



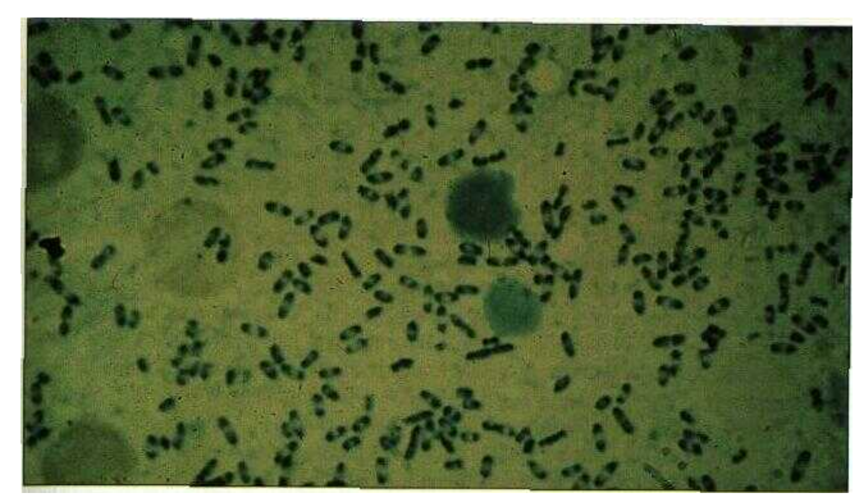
187 **Identification des salmonelles par sérotypage (antigène O).** Une souche identifiée comme appartenant au genre *Salmonella* (caractères culturaux et profil biochimique) doit être sérotypée vis-à-vis de ses antigènes 0 et H. L'agglutination 0 est réalisée en suspendant la souche dans une solution de sérum physiologique, puis en ajoutant une goutte d'anti-sérum spécifique d'un ou plusieurs antigènes 0. Après 30 s, on recherche une agrégation visible. *(Agglutination après 30 s)*



188 **Diagnostic de fièvre typhoïde par la réaction de Widal.** Ce test évalue la production d'anticorps circulants par réaction avec des préparations d'antigènes 0 et H de *Salmonella typhi.* Deux séries de dilutions du sérum d'un patient sont ajoutées aux antigènes dans des tubes, et l'on note la plus grande dilution provoquant une agglutination granuleuse avec l'antigène 0 et une agglutination floconneuse avec l'antigène H. Dilutions du 1:20 au 1:1280 et contrôle négatif. Titre 0, 1:80. *(Incubation 2 h à 37 °C)*



189 **Réaction de Widal, agglutination H.** Titre H, 1:320. *(Incubation 3 h à 37 °C)*



190 *Yersinia pesfis* (bacille pesteux), coloration de Wayson. Cette coloration montre des coccobacilles à coloration bipolaire. *(Coloration de Wayson, <1000)*

191 *Yersinia enterocolitica,* culture sur milieu CIN. Le milieu CIN (cefsulodine-irgosan-novobiocine) est sélectif pour isoler *Y. enterocolitica* dans les selles. Après 48 h d'incubation, *Y. enterocolitica* apparaît sous forme de colonies rosés à centre rouge. *(Gélose CIN, 48 h à 37 °C)*

COCCI ET COCCOBACILLES À GRAM NÉGATIF

Les caractéristiques principales **et les effets des bactéries de ce groupe sont résumés** dans les tableaux **192 à 200.**

Neiserria

Le genre *Neisseria* comprend deux pathogènes importants, *N. meningitidis* et *N. gonorrhoeae,* ainsi que des organismes commensaux comme *N. lactamica.* Sur la figure 201, la coloration de Gram du liquide céphalo-rachidien d'un patient atteint de méningite méningococcique montre des paires de cocci à Gram négatif de *N. meningitidis.* La figure 202 montre des colonies de *N. meningitidis* sur gélose au sang cuit («chocolat »). Une coloration de Gram et une culture de *N gonorrhoeae* sont présentées sur les figures 203 et 204. Des milieux sélectifs tels que la gélose MNYC (pour *modified New York Cify)* sont nécessaires pour isoler *N. gonorrhoeae* des échantillons cliniques. Les *Neisseria* sont oxydase positive (205), et sont différenciables entre elles par des tests d'utilisation des sucres (206 à 208). *Moraxella catarrhalis* (anciennement *Neisseria* puis *Branhamella catarrhalis)* est parfois impliquée dans des infections respiratoires (209). *M. lacunata* (210) est responsable de conjonctivites.

Bordetella

Bordetella pertussis, agent de la coqueluche, se présente comme un coccobacille à Gram négatif (211). Les échantillons cliniques sont ensemencés sur des milieux sélectifs tels que le milieu charbon-céphalexine au sang (CCBA) et requièrent une incubation de 2 à **3** jours. Les colonies ont un aspect métallique, en goutte de mercure (212).

Haemophilus

Le genre *Haemophilus* comprend une espèce pathogène pour l'homme, *H. influenzae* (et *H. ducreyi,* agent du chancre mou, *NdT).* Les souches de *H. influenzae* peuvent être ou non capsulées . Les souches capsulées de sérotype b sont responsables de méningites et d'épiglottites. Les figures 213, 214 et 215 montrent l'aspect à la coloration de Gram de *U. influenzae* La culture des bactéries du genre *Haemophilus* nécessite l'adjonction des facteurs de croissance X (hémine) et/ou V (NAD). *H. influenzae* requiert les deux, qui sont présents dans les géloses au sang cuit (216). Le diagnostic différentiel des espèces de *Haemophilus* selon leur dépendance aux facteurs X et V est illustré par les figures 217 et **218.** Sur la figure 219, une strie de 5. *aureus* (fournissant le facteur V) sur gélose au sang permet une pousse accrue de *H. influenzae* à proximité (satellitisme).

Pasfeurella

Pasteurella multocida fait partie de la flore buccale des chiens et des chats et peut être responsable d'infections de plaie de morsure (220 et 221).

Brucella

La brucellose humaine peut être causée par *Brucella abortus* (origine bovine), *B. melitensis* (origine ovine ou caprine), ou *B. suis* (origine porcine). À la coloration de Gram, *B. abortus* est un petit coccobacille à Gram négatif (222).

Les différentes espèces de *Brucella* se distinguent par leur sensibilité à deux colorants, la thionine et la fuchsine (223). La contamination du bétail peut être dépistée sérologiquement, dans le lait par le test de l'anneau (*milk ring test*, 224), ou dans le sérum par la réaction au rosé Bengale (225).

Cocci et coccobacilles à Gram négatif
Infections

Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Neisseria					
N. meningitidis (13 sérotypes)	Méningites, septicémies	Arthrites	Oui (sérotypes A et C)	2 à 10 jours	Jusqu'à 24 h après le début de la prophylaxie par la rifampicine
N. gonorrhoeae	Gonorrhée, salpingites aiguës	Arthrites, conjonctivites	Non	2 à 7 jours	Plusieurs mois si non traité
Moraxella					
M. catarrhalis	Pneumopathies	Conjonctivites, otites moyennes	Non	-	-
M. lacunata	Conjonctivites	-	Non	-	-
Francisella					
F. tularensis	Tularémie	-	Oui	2 à 10 jours	Pas de transmission inter-humaine

192 Cocci et coccobacilles à Gram négatif. Infections.

Cocci et coccobacilles à Gram négatif Sources et modes de transmission									
	Réservoir			Transmission					
Organisme	Homme	Animal	Env.	Insecte	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Neisseria meningitidis	+	-	-	-	-	+	-	-	Épidémique en Afrique (sérotype A)
N. gonorrhoeae	+	-	-	-	-	-	+	-	Résistance à la pénicilline en augmentation
Moraxella catarrhalis	+	-	-	-	-	+	-	-	
Moraxella lacunata	+	-	-	-	-	-	+	-	
Francisella tularensis	-	+	+	+	+	+	+	-	Capable de traverser la peau intacte

193 Cocci et coccobacilles à Gram négatif. Sources et modes de transmission.

Cocci et coccobacilles à Gram négatif Caractères d'identification				
Organisme	Gram	Culture sur gélose au sang	Oxydase	Réactions biochimiques
Neisseria meningitidis	diplocoques G –	colonies grises	+	fermente le glucose et le maltose
N. gonorrhoeae	diplocoques G –	pas de croissance	+	fermente le maltose
Moraxella catarrhalis	diplocoques G –	colonies blanches	+	ADNase +
Moraxella lacunata	coccobacilles G –	pousse faible : utiliser le milieu de Dorset à l'œuf	+	ne fermente pas le glucose
Francisella tularensis	coccobacilles G –	pas de croissance	–	identification par agglutination

194 Cocci et coccobacilles à Gram négatif. Caractères d'identification.

Coccobacilles à Gram négatif Infections					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Acinetobacter					
A. baumannii	Infection de plaie, bactériémie	Pneumopathie	Non	–	–
Bordetella					
B. pertussis	Coqueluche	–	Oui	7 à 21 jours	21 jours
B. parapertussis	Syndrome coquelucheux		Non	–	–
Haemophilus					
H. influenzae (type b)	Méningite, épiglottite, pneumonie, otite moyenne aiguë	Arthrite, ostéomyélite	Oui	2 à 4 jours	Durant la phase aiguë
H. influenzae (non capsulé)	Bronchite, otite moyenne aiguë		Non	–	–
H. parainfluenzae	Infections respiratoires aiguës		Non	–	–
H. aegyptius	Conjonctivite, fièvre hémorragique de l'enfant (Brésil)		Non	–	–
H. ducreyi	Chancre mou (vénérien)		Non	3 à 14 jours	1 à 3 semaines

195 Coccobacilles à Gram négatif. Infections.

Coccobacilles à Gram négatif Sources et modes de transmission								
	Réservoir			Transmission				
Organisme	Homme	Animal	Env.	Oro-fécale	Aérosols	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Acinetobacter baumannii	+	–	+	–	+	+	+	
Bordetella pertussis	+	–	–	–	+	–	–	
B. parapertussis	+	–	–	–	+	–	–	
Haemophilus influenzae (b)	+	–	–	–	+	–	–	
H. influenzae	+	–	–	–	+	–	–	
H. parainfluenzae	+	–	–	–	+	–	–	
H. aegyptius	+	–	–	–	–	+	–	
H. ducreyi	+	–	–	–	–	+	–	

196 Coccobacilles à Gram négatif. Sources et modes de transmission.

Coccobacilles à Gram négatif Caractères d'identification			
Organisme	Gram	Culture	Réactions d'identification
Acinetobacter	coccobacille G–	pousse sur gélose au sang et de MacConkey	Oxydase négative, nitrate négatif
Bordetella pertussis	"	pas de pousse sur gélose au sang	Colonies en goutte de mercure sur milieu CCBA[a], oxydase positive, absence d'uréase
B. parapertussis	"	pousse sur gélose au sang	Oxydase positive, uréase positive
			Dépendance des facteurs X[b] et V[c]: X / V
Haemophilus influenzae	"	pousse sur gélose au sang cuit	+ / +
H. parainfluenzae	"	pousse sur gélose au sang cuit	– / +
H. aegyptius	"	culture difficile à partir d'échantillons cliniques	+ / +
H. ducreyi	"	culture difficile à partir d'échantillons cliniques	+ / –

(a) Charbon-céphalexine-sang (b) X = hémine (c) V = NADP

197 Coccobacilles à Gram négatif. Caractères d'identification.

Coccobacilles à Gram négatif. Infections					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Pasteurella *P. multocida*	Infection de plaie de morsure animale	Septicémies	Non	-	-
Brucella *B. abortus*	Brucellose	–	-	5 à 30 jours	Pas de transmission interhumaine*
B. melitensis	Brucellose	–	-		
B. suis	Brucellose	–	-		

198 Coccobacilles à Gram négatif. Infections.

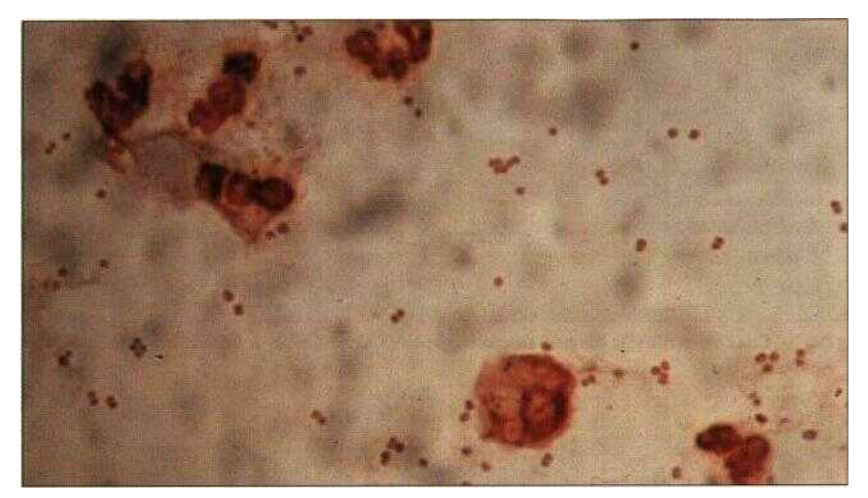
• Transmission sexuelle possible (NEJM 1996), Nal

Coccobacilles à Gram négatif Sources et mode de transmission								
	Réservoir			Transmission				
Organisme	Homme	Animal	Env.	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Pasteurella multocida	–	+	–	–	–	+	–	
Brucella abortus	–	+	–	+	+	+	–	Bovins
B. melitensis	–	+	–	+	+	+	–	Ovins, caprins
B. suis	–	+	–	+	+	+	–	Porcins

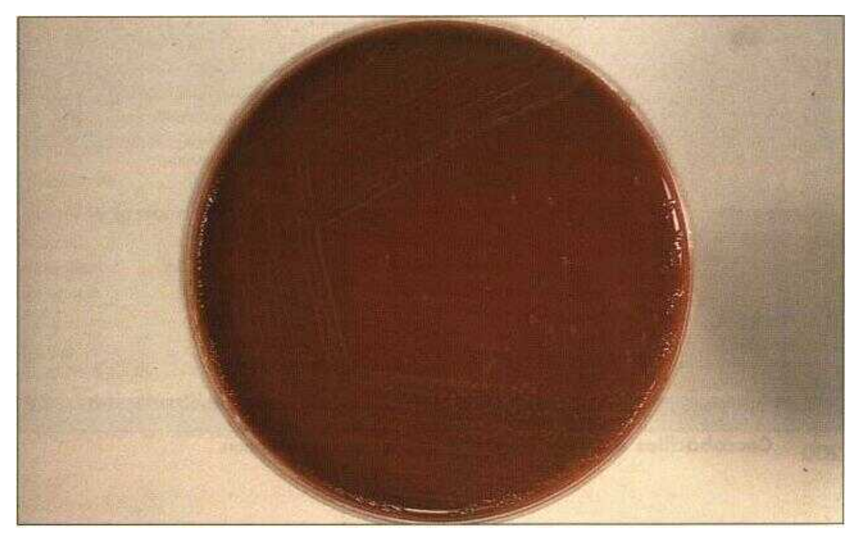
199 Coccobacilles à Gram négatif. Sources et modes de transmission.

Coccobaciles à Gram négatif Caractères d'identification				
Organisme	Coloration de Gram	Culture	Réactions d'identification	
Pasteurella multocida	Coccobacilles G –	Petites colonies non hémolytiques sur gélose au sang	Oxydase +, uréase –	
Brucella abortus	Coccobacilles G –	Petites colonies lisses après 48 h sur gélose au sang	Inhibition de croissance par les colorants	
		Échantillons cliniques : jusqu'à	thionine	fuchsine
		4 semaines de culture	+	–
B. melitensis	"	"	–	–
B. suis	"	"	–	+
+ = Inhibition.				

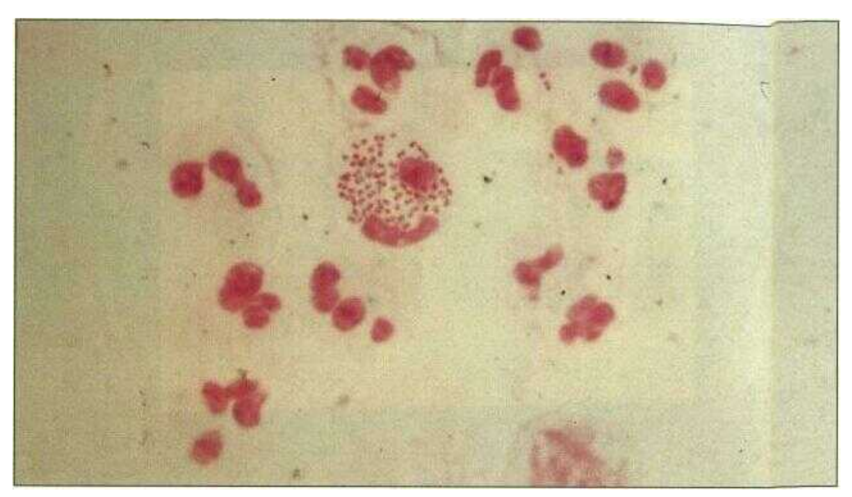
200 Coccobacilles à Gram négatif. Caractères d'identification.



201 Coloration de Gram du LCR d'un patient atteint de méningite méningococcique. La coloration montre les diplocoques à Gram négatif de *Neisseria meningitidis,* et en rosé, les leucocytes. *iGram, xi 000)*

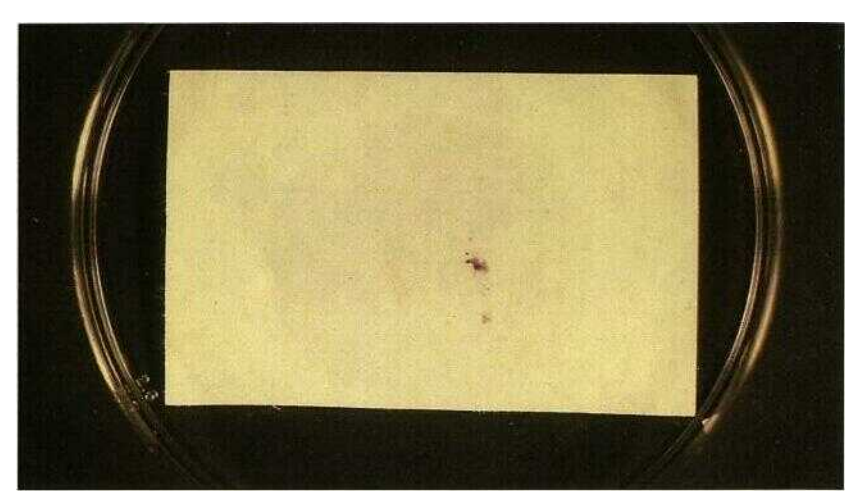


202 *Neisseria meningitidis,* gélose chocolat. La culture sur gélose au sang cuit (« chocolat ») montre des colonies gris pâle, oxydase positive. *(Gélose au sang cuit, 18 h à 37 °Cj*



203 *Neisseria gonorrhoeae,* coloration de Gram. Pus urétral de patient souffrant de gonorrhée Remarquer que les diplocoques sont surtout intracellulaires. *(Gram, x1000)*

204 Culture de *Neisseria gonorrhoeae,* milieu MNYC *(modified New York City).* Il s'agit d'un milieu sélectif pour isoler N. *gonorrhoeae* d'échantillons urogénitaux. (Gélose *MNYC, 18 h à 37 °C, sous* CO_2)



205 ***Neisseria gonorrhoeae,* réaction de l'oxydase.** Les Neisseria sont oxydase positive Les bactéries sont déposées sur un papier filtre imbibé de réactif à la phénylènediamine, qui est oxydée en indophénol pourpre. *(Papier imbibé de réactif oxydase, lecture après 30 s)* •



206 Utilisation des sucres par les *Neisseria.* Les différentes espèces (ici *N menm-gifidis)* peuvent être identifiées par leur capacité à utiliser le glucose, le maltose, le lactose et le sucrose. La production d'acide se traduit par une couleur jaune. *(Milieux aux sucres pour* Neisseria au *rouge de phénol, 18 h à 37 °C)*



207 Utilisation des sucres par *les Neisseria.* *N gonorrhoeae* ne Fermente que le glucose *(Milieux aux sucres pour* Neisseria ou *rouge de phénol, 18 h à 37 °C)*



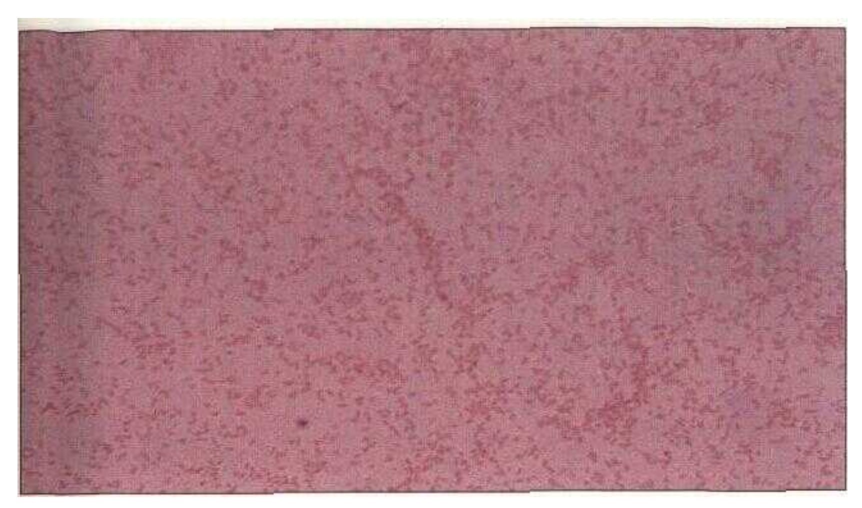
208 Utilisation des sucres par les *Neisseria.* *N.* lactamica fermente le glucose, le maltose et le lactose *(Milieux aux sucres pour* Neisseria au rouge de *phénol, 18 h à 37 °C)*



209 ***Moraxella catarrhalis.*** Coloration de Gram d'une expectoration montrant de gros cocci a Gram négatif *M catarrhalis* est un commensal du haut de l'arbre respiratoire, mais est aussi une cause d'infection respiratoire *(Gram, x1000j*

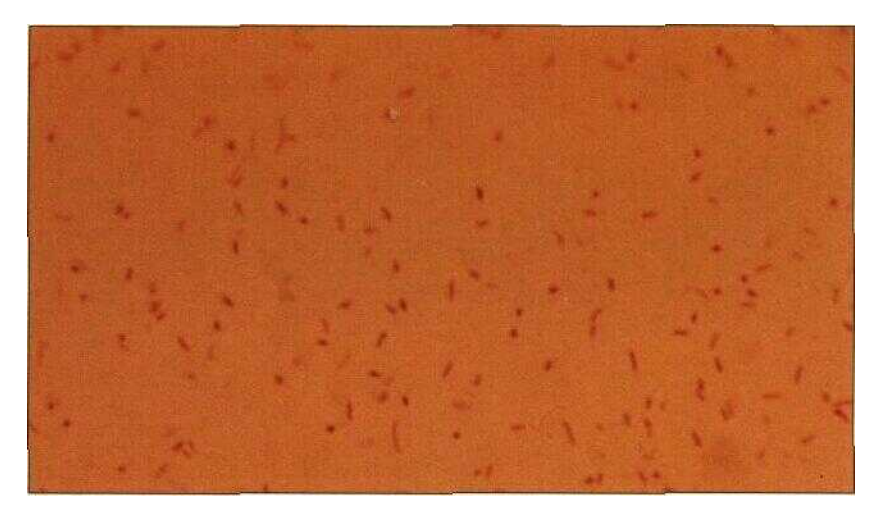


210 ***Moraxella lacunata.*** Coloration de Gram d'un écoulement oculaire lors d'une conjonctivite, montrant des coccobacilles à Gram négatif souvent en forme de brique, jointifs par leurs extrémités *(Qram, x1000)*

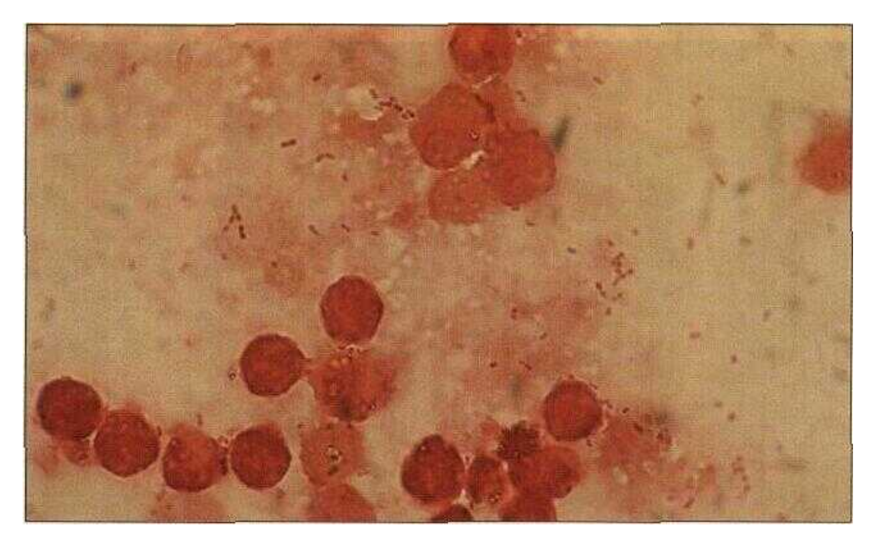


211 ***Bordetella pertussis.*** Coccobacilles a Gram négatif, seuls ou apparies La coqueluche est tou|ours une infection d'actualité chez les enfants Les échantillons sont prélevés par écouvillonnage naso-pharynge et ensemences sur des milieux sélectifs tels que la gélose charbon-cephalexine au sang (CCBA) *(Gram, ×1000)*

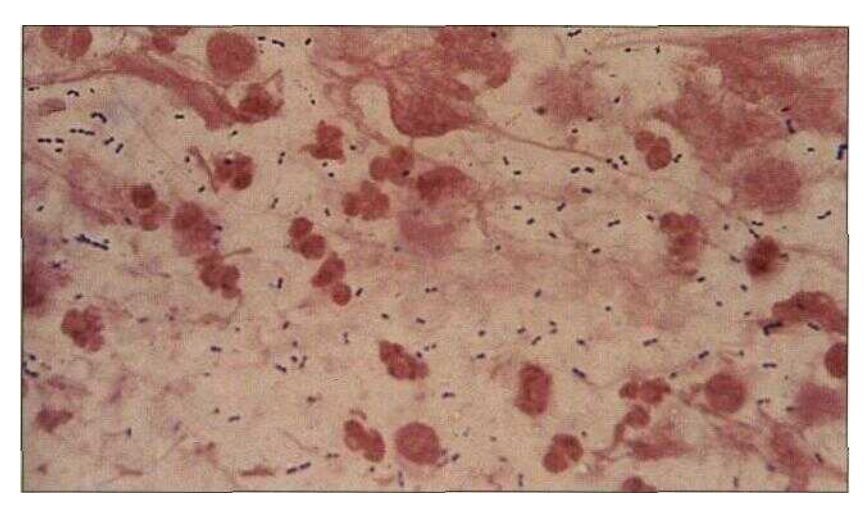
212 ***Bordetella pertussis,* culture d'écouvillonnage naso-pharynge.** Culture sur CCBA Apres une incubation de 2 a 5 |ours en atmosphère humide, 8 *pertussis* forme de petites colonies brillantes à l'aspect métallique, en goutte de mercure *(Milieu CCBA,* 5 (ours a *37 °C)*



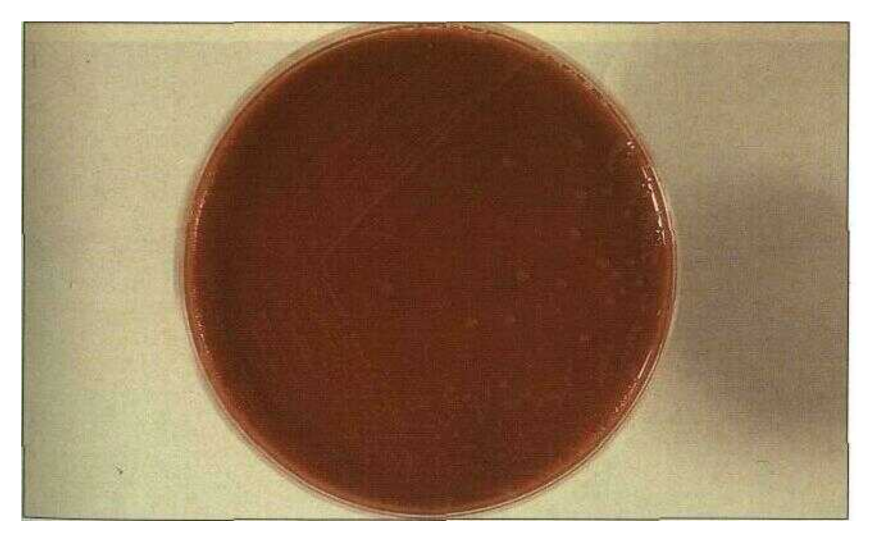
213 ***Haemophilus influenzae.*** Coloration de Gram d'une culture montrant des coccobacilles à Gram négatif. *(Gram, xi000)*



214 Méningite à *Haemophilus influenzae.* Coloration de Gram du LCR d'un patient atteint de méningite à *H. influenzae.* Les coccobacilles à Gram négatif sont parfois difficiles à distinguer parmi les polynucléaires rosés *(Grain, x1000)*



215 ***Haemophilus influenzae.*** Coloration de Gram d'expectoration contenant H. *influenzae* (coccobacilles à Gram négatif) et S. *pneumoniae* (diplocoques à Gram positif). *(Gram, xi 000]*

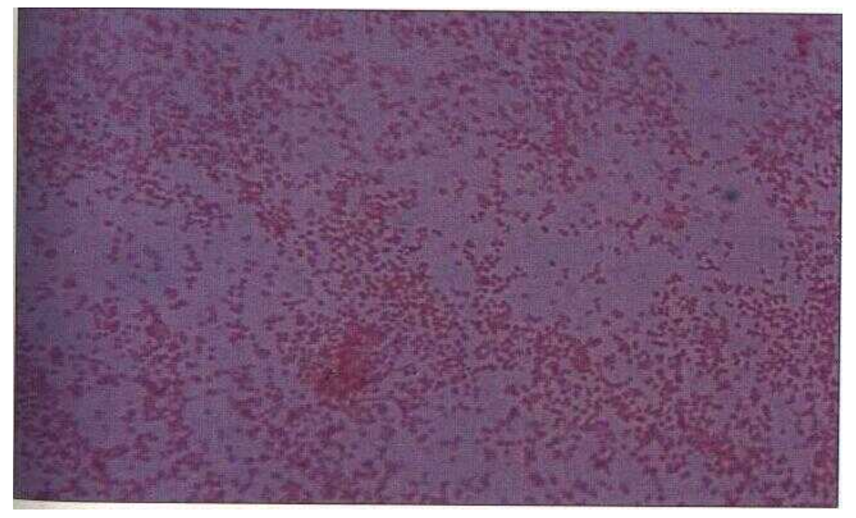


216 Culture sur gélose « chocolat » de *Haemophilus influenzae.* *H. influenzae* requiert de l'hémine (facteur de croissance X) et du NAD (nicotinamide adénine dinucléotide, ou facteur V). Le facteur V est libéré par chauffage du sang. Les colonies sont grises et muqueuses *(Gélose au sang cuit, 18 h à 37 °C)*

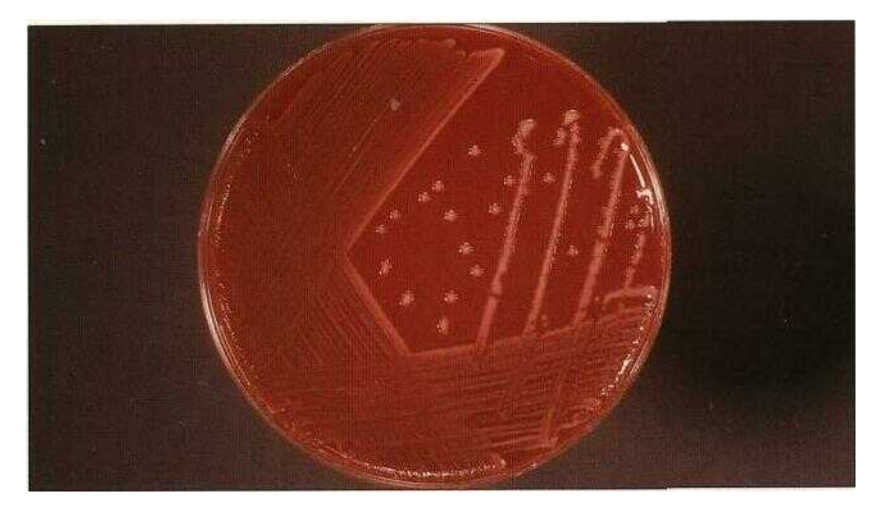
217 Dépendance des facteurs X et V de *Haemophilus influenzae.* Croissance sur gélose nutritive, en présence des facteurs X, V, et X+V H. influenzae requiert les deux facteurs, et ne pousse qu'autour du disque contenant X et V *(Gélose nutritive, 18 h à 37 °C)*

218 *Haemophilus influenzae* et *H. parainfluenzae.* Les deux moitiés de la gélose ont été ensemencées avec H. *influenzae* et H. *parainfluenzae,* en présence des facteurs X, V, et X+V H *parainfluenzae* requiert seulement le facteur V, et pousse donc autour des disques contenant V et X+V. *(Gélose nutritive, 18 h à 37 "Ci*

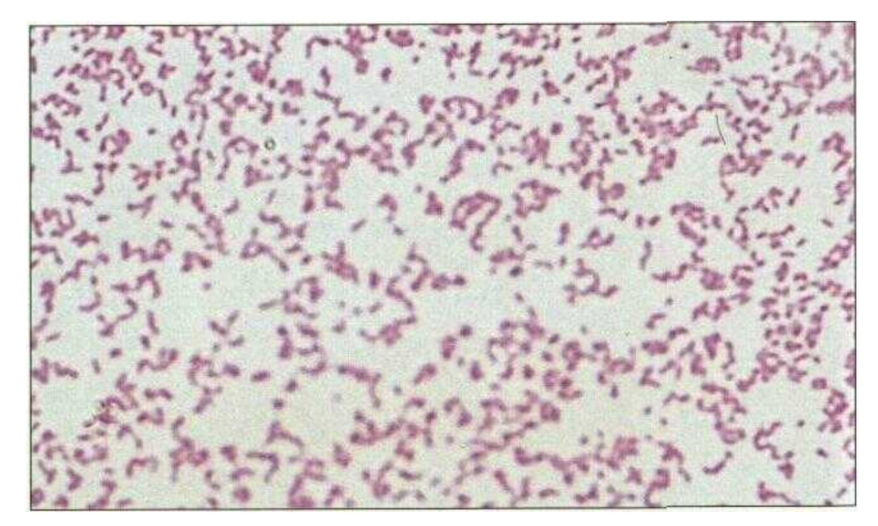
219 Effet d'une culture de *Staphylococcus aureus* sur la croissance de H. *influenzae.* Culture sur gélose au sang, montrant le satellitisme au voisinage d'une strie de 5. oureus S. aureus produit un excédent de facteur V permettant la pousse de *H influenzae à* proximité *(Gélose au sang, 18 h à 37 °C)*



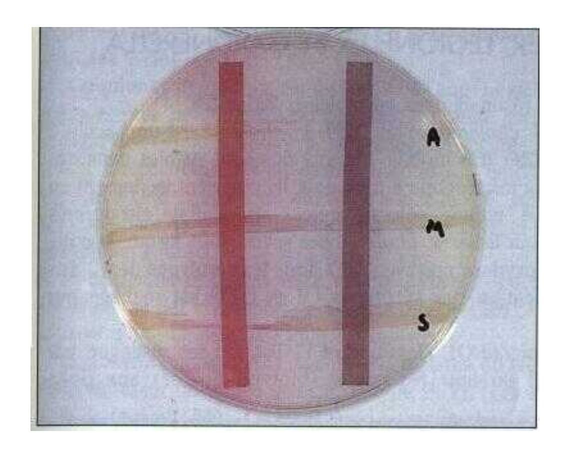
220 *Pasteurella multocida,* coloration de Gram. Coccobacilles à Gram négatif. P *multocida* (ait partie de la flore buccale normale des chiens, et peut infecter les plaies de morsure *(Gram, x1000)*

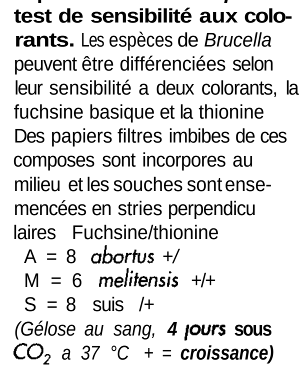


221 Culture de *Pasteurella multocida.* La pousse sur gélose au sang montre des colonies translucides non hemolytiques avec des reflets bleus P *multocida* est oxydase positive, et ne pousse pas sur milieu de MacConkey *(Gélose au sang, 18 h a 37 °C)*



222 *Brucella abortus.* Coloration de Gram montront des coccobacilles a Gram négatif Les bactéries peuvent présenter une coloration bipolaire, et sont rarement observées a l'examen direct avant culture *(Grain ×1000)*

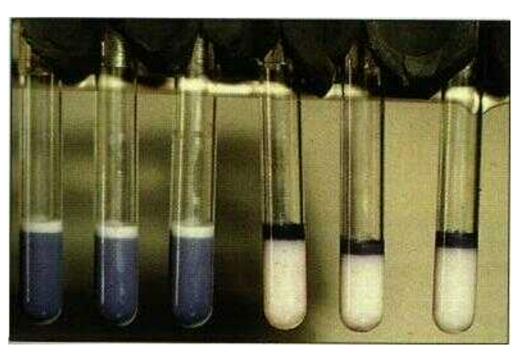




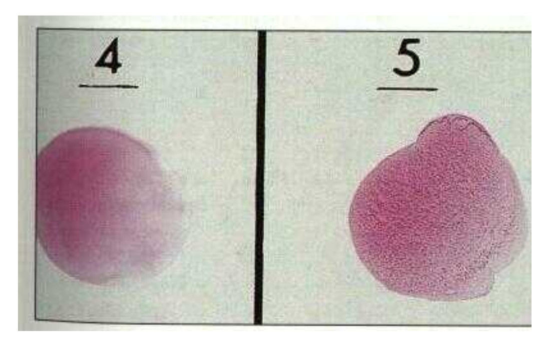
223 Identification des espèces de *Brucella par* un test de sensibilité aux colorants. Les espèces de *Brucella* peuvent être différenciées selon leur sensibilité a deux colorants, la fuchsine basique et la thionine Des papiers filtres imbibes de ces composes sont incorpores au milieu et les souches sont ensemencées en stries perpendiculaires Fuchsine/thionine

A = 8 *abortus* +/
M = 6 *melitensis* +/+
S = 8 suis /+

(Gélose au sang, ***4 jours*** **sous** CO_2 *a 37 °C + =* ***croissance)***



224 Réaction de l'anneau dans le lait *(milk ring test).* Le lait des animaux atteints de brucellose peut contenir des agglutinines anti *Brucella* On ajoute a un échantillon de lait une suspension de *Brucella* tuées et colorées a l'hematoxyline La formation d'un anneau bleu a la surface signe une reaction positive (les complexes immuns ainsi formes auraient une forte affinité pour les globules lipidiques du lait entier, NdT) *(Incubation de 1 ha 37 °C)*



225 Test au rosé Bengale. Ce test est un dépistage d'anticorps onti *Brucella* dans le sérum d animaux (ou dans le sérum humain NdT) *(Agglutination sur carton lue après 3 min, S = positif)*

VIBRIONS, CAMPYLOBACTER, LEGIONELIA ET GARDNERELLA

Les caractères de ces bactéries sont résumés dans les tableaux **226 à 228.**

Le choléra est dû aux vibrions *V. cholerae* 01 et 0139. *V. cholerae* est un bacille à Gram négatif en forme de virgule (229), très mobile. Les vibrions sont visibles dans des échantillons de selles non colorés, au microscope à fond noir. Ils poussent facilement en eau peptonée alcaline **(230).** Le milieu sélectif gélose thiosulfate/citrate/sels biliaires/sucrose (TCBS) est utilisé pour isoler *V. cholerae des* selles, sous forme de colonies jaunes, donnant une réaction d'oxydase positive (231). Tous les sérotypes de *V. cholerae* poussant sur TCBS, l'identification des sérotypes 01 et 0139 est réalisée par agglutination sur lame (232).

Il existe deux biotypes de *V. cholerae* 01, classique et El Tor. On les distingue par leur sensibilité (biotype classique) ou leur résistance (biotype El Tor) aux poly-

Vibrions et espèces voisines, *Legionella, Gardnerella* **Infections**					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Vibrio					
V. cholerae	choléra	–	Oui	2 à 3 jours	parfois longue
V. parahaemolyticus	intoxications alimentaires		Non	12 à 36 h	portage asymptomatique
Aeromonas					
A. hydrophila	gastroentérites	bactériémies chez l'immunodéprimé	Non	–	–
Plesiomonas					
P. shigelloides	gastroentérites	septicémies	Non	–	–
Campylobacter					
C. jejuni	diarrhées, entérocolites	bactériémies	Non	1 à 10 jours	plusieurs semaines
Helicobacter					
H. pylori	gastrites, ulcère gastrique	–	Non	–	–
Legionella					
L. pneumophila	légionellose, toux fébrile, myalgies	fièvre de Pontiac	Non	2 à 10 jours	pas de transmission directe interhumaine
Gardnerella					
G. vaginalis	vaginose	–	Non	–	–

226 Vibrions et espèces voisines, *Legionella, Gardnerella.* Infections.

myxines (233). *V. parahaemolyticus* est responsable d'infections alimentaires. 11 forme des colonies vertes sur TCBS (234).

Aeromonas hydrophila est un bacille à Gram négatif droit et mobile, à l'origine de diarrhées et plus rarement de septicémies. Il pousse sur gélose au sang à l'ampicilline, produisant des colonies hémolytiques (235). Les figures **236** et **237** montrent *Campylobacter jejuni*, cause fréquente de gastro-entérites. La coloration de Gram montre de délicats bacilles à Gram négatif, en « ailes de mouette ». C. *jejuni* est cultivé sur des milieux sélectifs contenant de la vancomycine et de la colistine, et pousse préférentiellement en microaérophilie, à 42 °C.

Helicobacter pylori est associé à des gastrites et des ulcères gastriques. Il peut être mis en évidence par coloration de Giemsa directe (238), ou cultivé sur gélose au sang (239), à partir d'une biopsie gastrique.

Legionella pneumophila, agent de la maladie du légionnaire, requiert jusqu'à sept jours de culture sur un milieu sélectif de type BCYE (gélose tamponnée au charbon et à l'extrait de levure) (240). On peut aussi la rechercher directement par immunofluorescence sur certains prélèvements (241).

Gardnerella vaginalis est associée aux vaginoses bactériennes. La coloration de Gram des sécrétions montre des cellules épithéliales entourées par des bacilles à Gram négatif pléomorphes (242). La figure **243** montre des colonies de G. *vaginalis* sur un milieu sélectif.

Vibrions, *Legionella, Gardnerella*
Sources et mode de transmission

	Réservoir			Transmission				
Organisme	Homme	Animal	Env.	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Vibrio cholerae	+	-	+	+	-	-	-	Choléra (sérotypes 01 et 0139)
V. parahaemolyticus	-	+	±	+	-	-	+	
Aeromonas hydrophila	+	±	+	+	-	-	-	
Plesiomonas shigelloides	-	+	+	+	-	-	-	
Campylobacter jejuni	-	+	-	+		-		
Helicobacter pylori	+				+		+	
Legionella pneumophila	-	-	+	-	-	-	-	
Gardnerella vaginalis	+	-	-	-	-	+	-	

227 Vibrions et espèces voisines, *Legionella, Gardnerella.* Sources et modes de transmission.

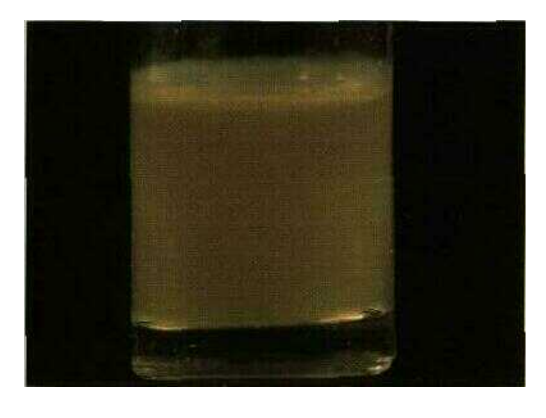
Vibrions, *Legionella*, *Gardnerella*
Caractères d'identification

Organisme	Coloration de Gram	Culture	Réactions d'identification
Vibrio cholerae	bacille G –, en virgule	colonies jaunes sur TCBS[a]	Oxydase +. Les biotypes classiques et El Tor se différencient par la réaction de VP et la sensibilité à la colistine
V. parahaemolyticus	bacilles G –, en virgule	colonies vertes sur TCBS	Oxydase +
Aeromonas hydrophila	bacilles G –, droits	β-hémolyse sur gélose au sang	Oxydase +, VP +
Plesiomonas shigelloides	"	non hémolytique sur gélose au sang	Oxydase +, VP –
Campylobacter jejuni	bacilles G –, fins, en S	croissance à 43 °C, microaérophile	Fermente l'inositol, oxydase +
Helicobacter pylori	bacilles G – incurvés	croissance en 2 à 7 jours sur gélose chocolat	Oxydase +
Legionella pneumophila	bacilles G –	colonies grises sur BCYE[b], en 3 à 4 jours	Immunofluorescence directe
Gardnerella vaginalis	coccobacilles G –	colonies grises sur milieu sélectif, sous CO_2	« *clue cells* » à l'examen direct

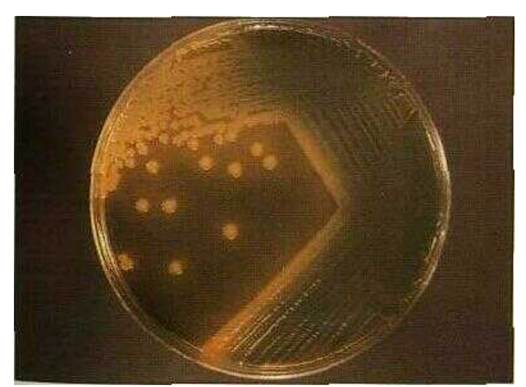
(a) Thiosulfate, citrate, sels biliaires, sucrose. (b) gélose au charbon et à l'extrait de levure

228 Vibrions et espèces voisines, *Legionella*, *Gardnerella*. Caractères d'identification.

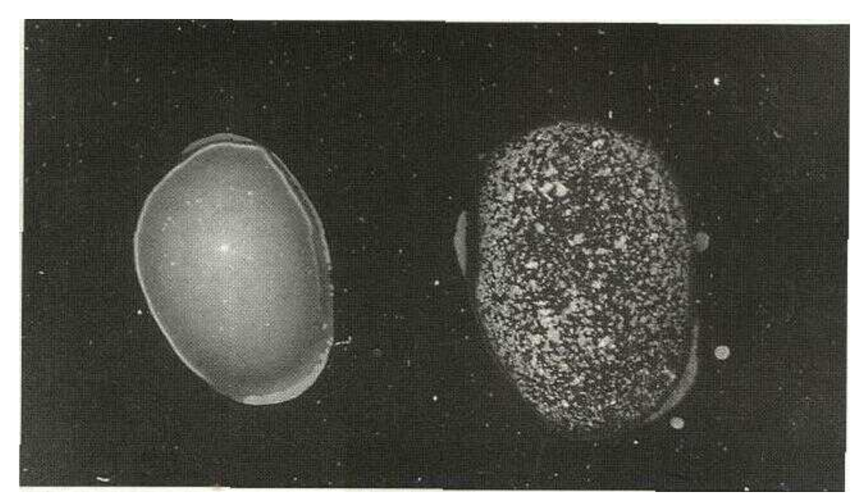
229 *Vibrio cholerae.* Coloration de Gram à partir d'une culture en eau peptonée alcaline, montrant un bacille à Gram négatif en forme de virgule. Cet aspect caractéristique peut aider au diagnostic présomptif de choléra. fGram, ×1000)



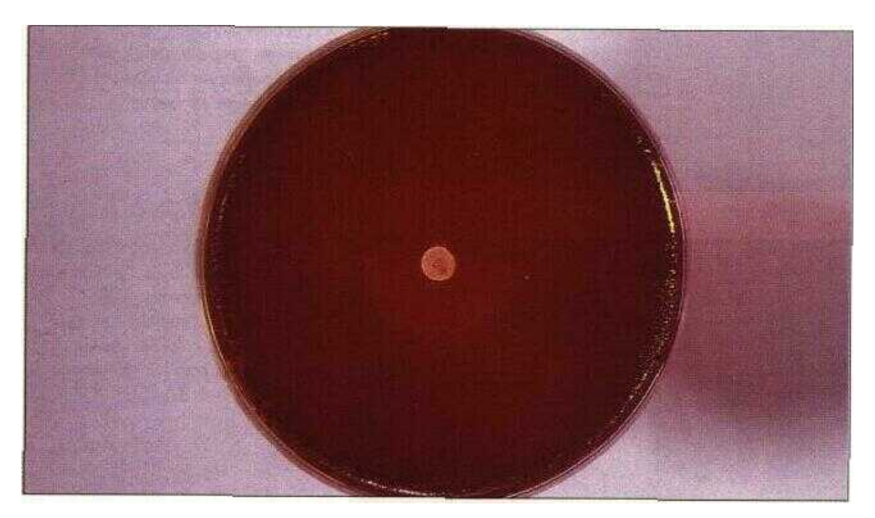
230 Culture en eau peptonée alcaline de *Vibrio cholerae*. La croissance est visible au bout de 6 heures de culture à température ambiante, à l'interface air-liquide. L'eau peptonée alcaline est un bon milieu de transport des selles et d'écouvillonnages rectaux de patients suspects de choléra. *(Eau peptonée alcaline, 6 h à température ambiante)*



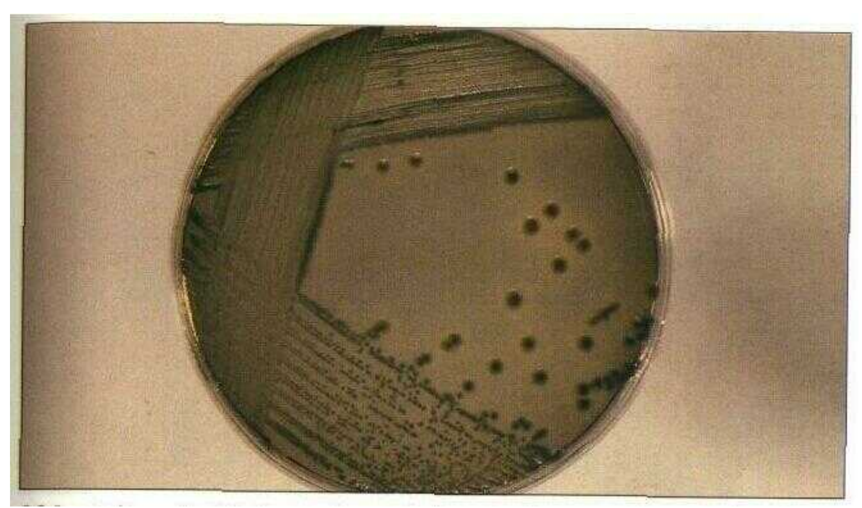
231 *Vibrio cholerae.* Culture sur gélose **thiosulfate-citrate-**sels biliaires-sucrose (TCBS). *V. cholerae* fermente le sucrose **et** forme des colonies jaunes. Il est oxydase positive. *(Gélose TCBS, 18 h à 37 °Q*



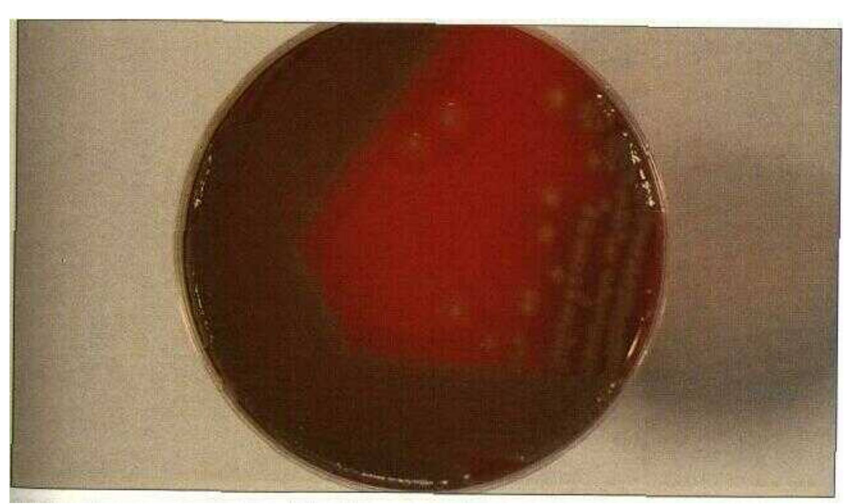
232 Agglutination de *Vibrio cholerae* sur lame. Une souche de *V cholerae* du sérolype 01 est agglutinée sur lame par un antisérum spécifique anti-01 Une goutte de suspension diluée de la souche cultivée sur gélose est mélangée à une goutte d'anticorps anti-01, et examinée après 30 s *(Agglutination sur lame, lecture après 30 sj*



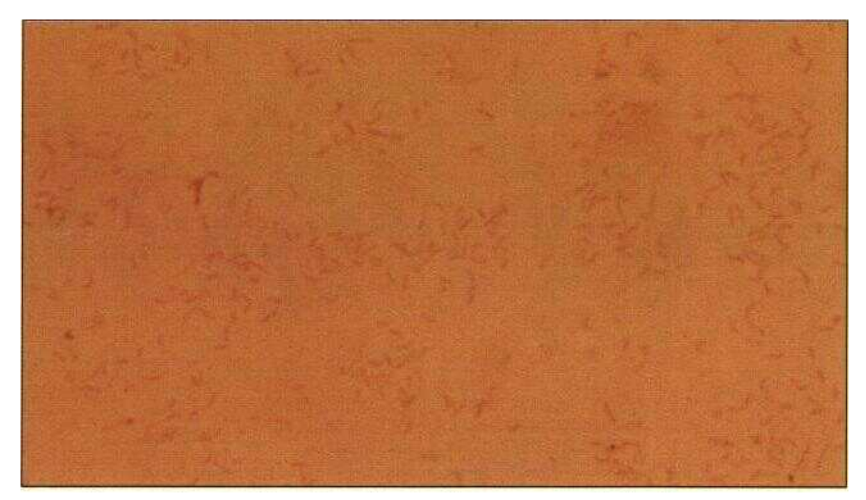
233 Biotypes de *Vibrio cholerae.* *V cholerae* est divisé en deux biotypes, classique et El Tor La plupart des cas de choiera sont dus au biotype El Tor La sensibilité a 50 UI de polymyxme en milieu gélose permet de distinguer le biotype El Tor (résistant) du biotype classique (sensible) *(Antibiogramme en milieu gélose, 18 h à 37 °C)*



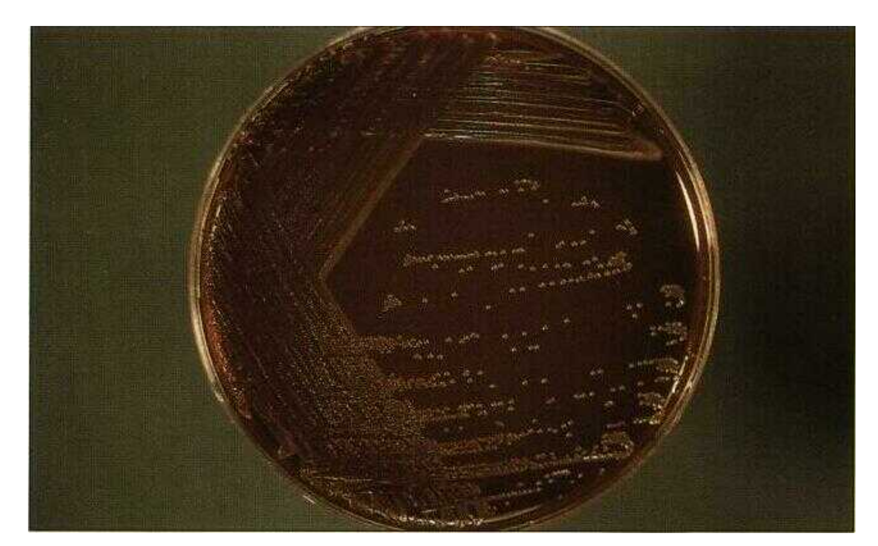
234 Culture de *Vibrio parahaemolyticus.* La cdture sur TCBS montre des colonies vertes (ne fermentant pas le sucrose) *V parahaemolyticus* est responsable d'infections alimentaires associées à des fruits de mer *(Gélose TCBS, 18 h à 37 °C)*



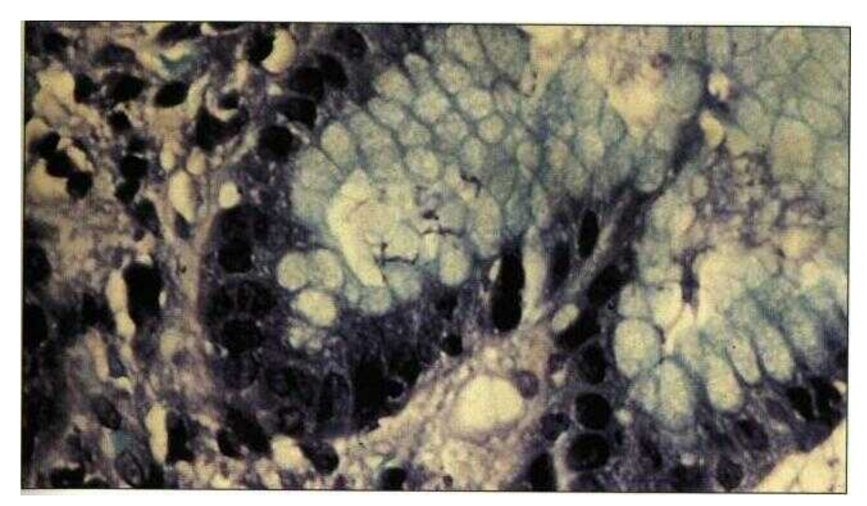
235 ***Aeromonas hydrophila.*** Culture sur gélose au sang contenant 10 ug/ml d'ampicilline Les colonies p-hémolytiques sont oxydase positive *(Gélose au sang, 18 h à 37 °C)*



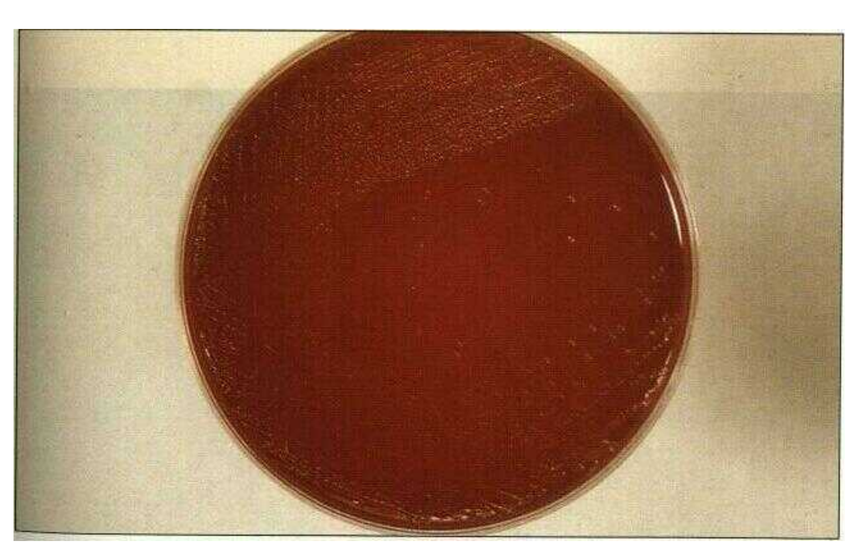
236 *Campylobacter jejuni.* La coloration de Gram montre des bacilles caractéristiques incurves en spirale a Grrm négatif souvent compares a des « ailes de mouette » *(Gram x1000f*



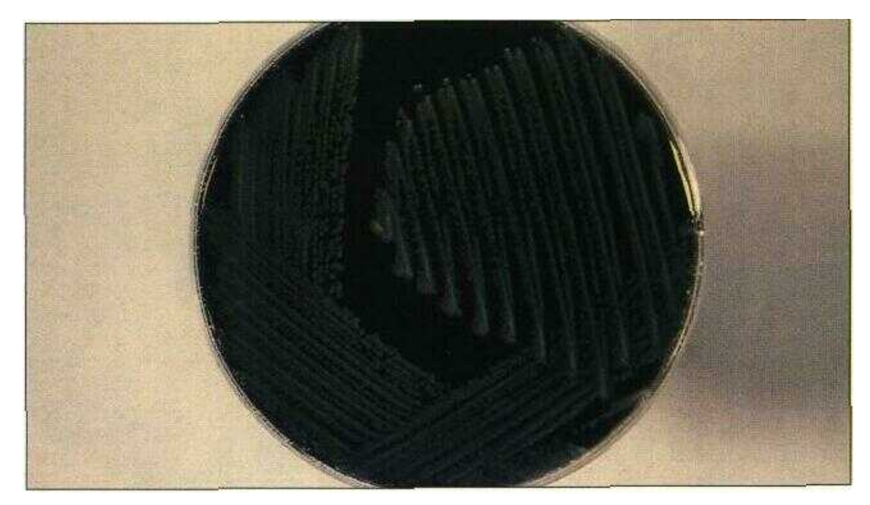
237 Culture de *Campylobacter jejuni.* *C jejuni* est un germe microaerophile, qui pousse preferentiellement a 42 °C Sur milieu sélectif *Campylobacter,* contenant de la vancomycine et une polymyxine, les colonies sont petites, grises et en gouttelettes *(Milieu sélectif* Campylobacter, *48 h à 43* °C, sous ÏO *%* O_2*)*



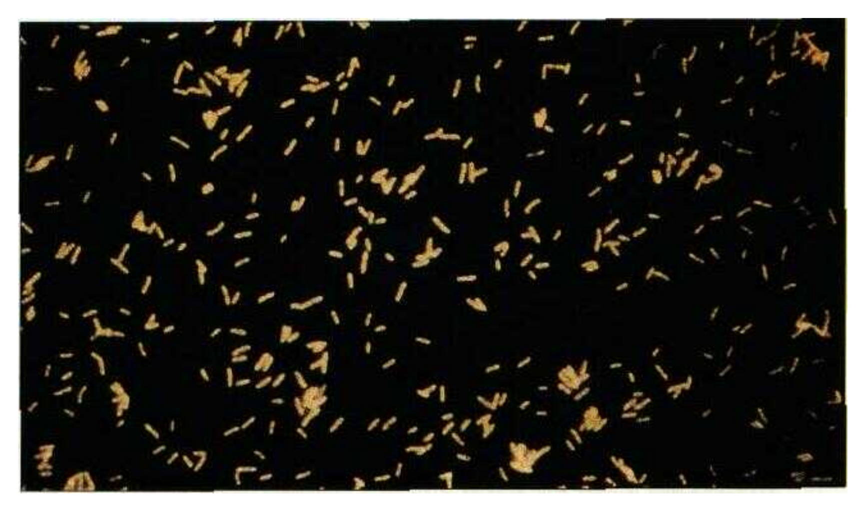
238 ***Helicobacter pylori,*** **coloration de Giemsa.** Coloration directe de biopsie de muqueuse gastrique, montrant H py/on dans les cellules a mucus *(Giemsa, x1000)*



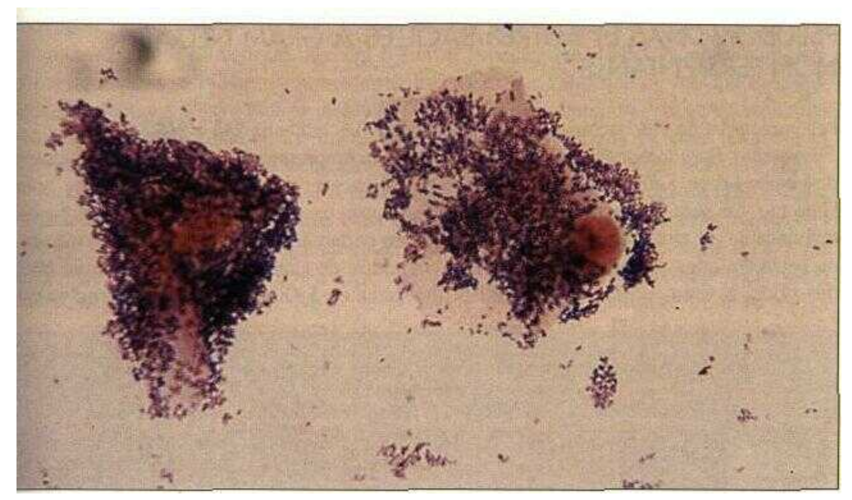
239 ***Helicobacter pylori*** **sur gélose au sang.** La culture produit des colonies claires, qui peuvent pousser a partir d'un échantillon de biopsie gastrique *(Gélose au sang, 18 h a 37 °Cj*



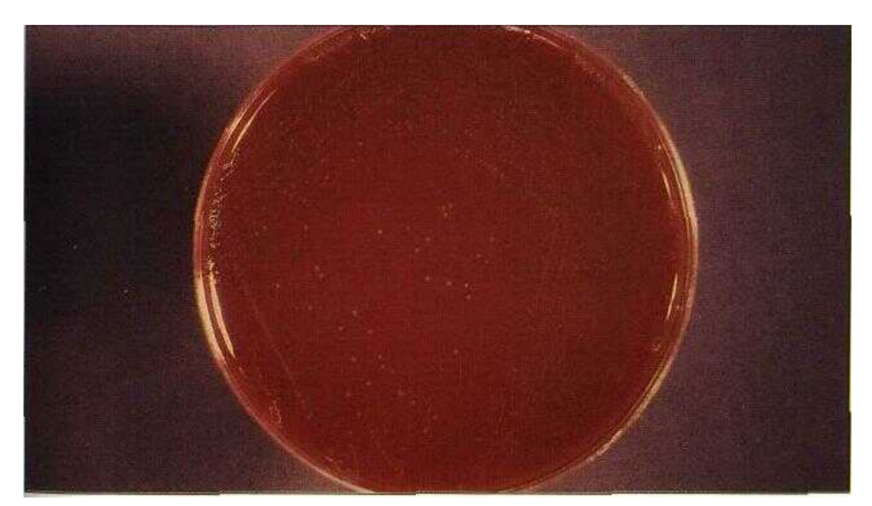
240 Culture de *Legionella pneumophila.* Les échantillons contenant *L pneumophila* sont cultivés sur milieu tamponné au charbon et à l'extrait de levure (BCYE) incubé sous CO_2 pendant 3 à 14 jours. Les colonies sont luisantes, gris-blanc et constituées de bacilles à Gram négatif. *(Milieu BCYE, 4 jours à 37 °C)*



241 *Legionella pneumophila en* microscopie à fluorescence. L *pneumophila* peut être recherchée dans les sécrétions respiratoires, en utilisant des anticorps marqués à la fluorescéine. *(Microscopie à fluorescence, xi 000]*



242 *Gardnerella vaginalis,* coloration de Gram. Les bacilles à Gram négatif sont massés à la périphérie des cellules épithéliales, parfois désignées sous le terme de « c/ue ce//s ». *(Qram, ×1000)*



243 Culture de *Gardnerella vaginalis.* Sur milieu *Gardnerella,* une gélose de base Columbia contenant de la gentamicine, de l'acide nalidixique et de l'amphotéricine B, les colonies de G. *vaginalis* sont petites et grises. *(Milieu Gardnerella, 48 h à 37 °C sous CO_2)*

PSEUDOMONAS ET AUTRES BACILLES À GRAM NÉGATIF NON FERMENTANTS

Les caractères de ces bactéries sont résumés dans les tableaux **244 à 246.**

Le genre *Pseudomonas* et les espèces voisines comprennent des bactéries largement distribuées dans l'environnement, et dont certaines sont d'importants pathogènes pour l'homme. Ce sont des germes résistants à de nombreux antibiotiques. *P. aeruginosa* est responsable de toute une gamme d'infections, en particulier de plaies de l'arbre urinaire, ou septicémiques. La figure **247** montre la coloration de Gram d'une expectoration, avec des cocci à Gram positif *(S. aureus)* et des bacilles à Gram négatif *(P. aeruginosa).*

Pseudomonas et autres bacilles à Gram négatif non fermentants
Infections

Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Pseudomonas					
P. aeruginosa	infections de plaie, infections urinaires, septicémie	pneumopathies	Non	—	—
Burkholderia cepacia	infections respiratoires (mucoviscidose)	—	Non	—	—
B. pseudomallei	mélioïdose	—	Non	jusqu'à plusieurs années	transmission interhumaine peu probable
Stenotrophomonas maltophilia	—	bactériémies	Non	—	—
Eikenella					
E. corrodens	plaies de morsures humaines	méningites, endocardites	Non	—	—
Flavobacterium					
F. meningosepticum	méningites néonatales	infections de plaies	Non	—	—
Kingella					
K. kingae	arthrites chez l'enfant	bactériémies	Non	—	—
« Dysgonic fermenters »					
DF 3 (*Capnocytophaga canimorsus*)	morsures animales, septicémies		Non	—	—

244 ***Pseudomonas* et autres bacilles à Gram négatif non fermentants.**
Infections.

P. aeruginosa ne fermente pas le lactose et produit une réaction d'oxydase positive. Les cultures produisent souvent un pigment bleu-vert (pyocyanine) (248). Biochimiquement, les *Pseudomonas* se différencient des entérobactéries par l'absence de métabolisme fermentatif (reactions d'oxydation-fermentation) **(249, 250).** *Burkholderia cepacia* (anciennement *Pseudomonas cepacia)* est un important pathogène respiratoire chez les patients atteints de mucoviscidose; il peut être détecté par sa résistance à la colistine (251). *B. pseudomallei* est l'agent d'une infection tropicale humaine, la mélioïdose **(252 à 254).**

Eikenella corrodens est retrouvé dans des plaies de morsure humaine et forme des colonies jaunâtres sur gélose au sang (255), qui peuvent s'incruster dans le milieu. Le genre *Flavobacterium* comprend *F. meningosepticum* (renommé récemment *Chryseobacterium meningosepticum, NdT),* responsable de rares méningites néonatales, et *F. odoratum*, pathogène occasionnel de l'immunodéprimé. Les *Fia voba cterium* produisent des colonies jaunes sur gélose au sang (les colonies de *C. meningosepticum* sont cependant beaucoup plus pâles que celles des autres espèces, *NdT)* (256).

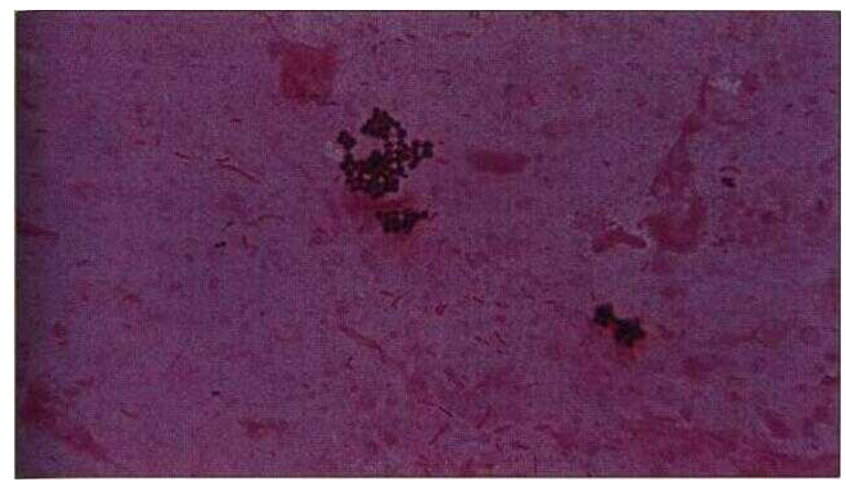
Pseudomonas et autres bacilles non fermentants
Sources et modes de transmission

	Réservoir			Transmission					
Organisme	Homme	Animal	Env.	Insecte	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Pseudomonas aeruginosa	+	–	+	–	–	+	+	+	
Burkholderia cepacia	+	–	+	–	–	+	+	+	
Stenotrophomonas maltophilia	–	–	+	–	–	–	+	+	
Burkholderia pseudomallei	–	±	+	–	–	–	+	–	Saprophyte tellurique, infections humaines en Asie du Sud-Est
Eikenella corrodens	+	–	–	–	–	–	+	–	
Flavobacterium meningosepticum	–	–	+	–	–	–	+	+	
Kingella kingae	+	–	–	–	–	–	+	+	
DF 3	–	+	–	–	–	–	+	–	

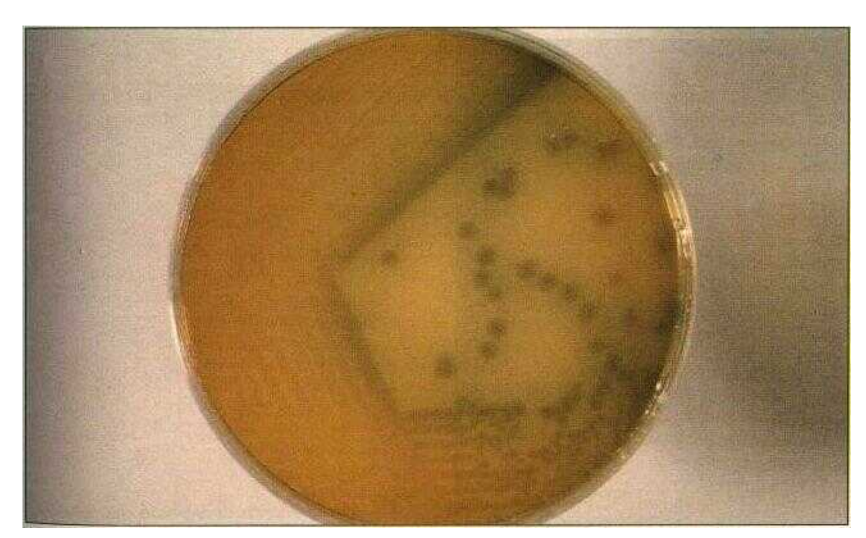
245 *Pseudomonas* et autres bacilles non fermentants. Sources et modes de transmission.

Pseudomonas et autres bacilles non fermentants Caractères d'identification			
Organisme	Coloration de Gram	Culture	Réactions d'identification
Pseudomonas aeruginosa	bacilles Gram –	pigment vert	
Burkholderia cepacia	bacilles Gram –	croissance en présence de colistine	
Stenotrophomonas maltophilia	bacilles Gram –	colonies rugueuses sur gélose au sang	
Burkholderia pseudomallei	bacilles Gram –, souvent bipolaire	colonies ridées sur gélose au sang	
Eikenella corrodens	bacilles Gram –	colonies creusant la gélose	
Chryseobacterium meningosepticum (NdT)	bacilles Gram –, filamenteux	colonies jaunes sur gélose au sang	
Kingella kingae	bacilles Gram –, courts	colonies en « œuf au plat » sur gélose au sang	
DF 3	coccobacilles Gram –	exigences nutritionnelles oxydase négative	Tous sont oxydase positive à l'exception de *S. maltophilia* *Kingella* oxyde et fermente le glucose. Les autres sont non fermentants

246 ***Pseudomonas* et autres bacilles non fermentants.** Caractères d'identification.



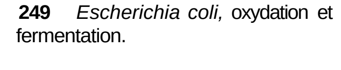
247 Coloration de Gram d'une expectoration contenant *Pseudomonas leruginosa.* Cette expectoration d'un patient atteint de mucoviscidose montre des staphylo-oques et les fins bacilles a Gram négatif de P aeruginosa *(Gram, x1000j*



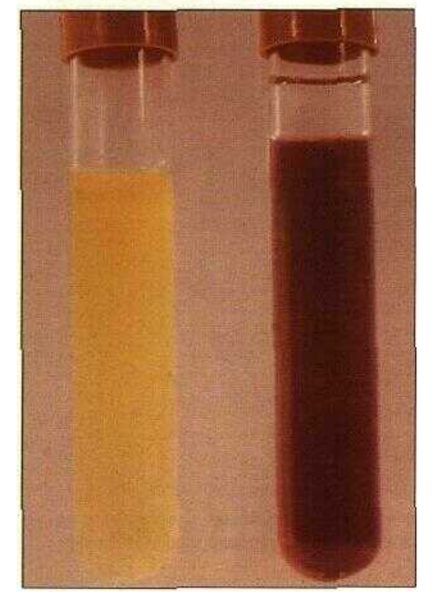
248 *Pseudomonas aeruginosa.* Culture sur milieu de MacConkey P *aeruginosa* ne fermente pas le lactose, est oxydase positive et produit souvent un pigment bleu-vert, la pyo-cyamne *(Gélose de MacConkey, 18 h a 37 °Cj*



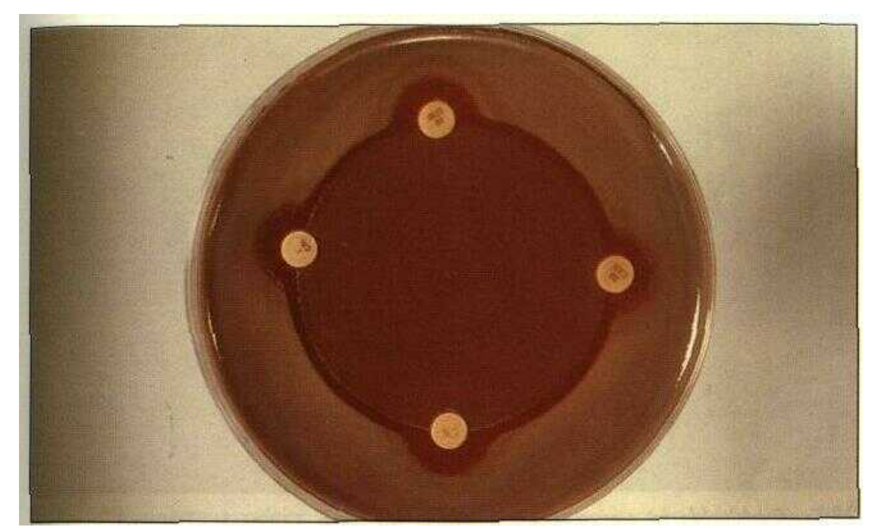
249,250 Réactions d'oxydation-fermentation. Le germe étudié est ensemencé dans deux tubes de milieu gélose contenant du glucose et un indicateur de pH (bleu de bromothymol). L'un des tubes est ensuite scellé par une couche d'huile de paraffine pour isoler son contenu de l'oxygène de l'air. Les tubes sont incubés jusqu'à deux semaines. L'acidification se traduit par une coloration jaune. Les bactéries qui oxydent et fermentent le glucose produisent une acidification dans les deux tubes, alors que celles qui sont strictement oxydantes n'acidifient que le milieu du tube sans paraffine.



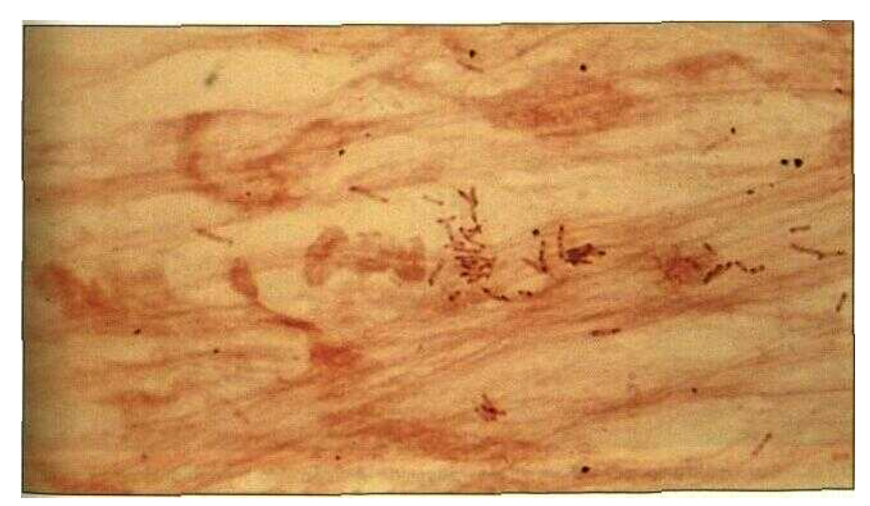
249 *Escherichia coli,* oxydation et fermentation.



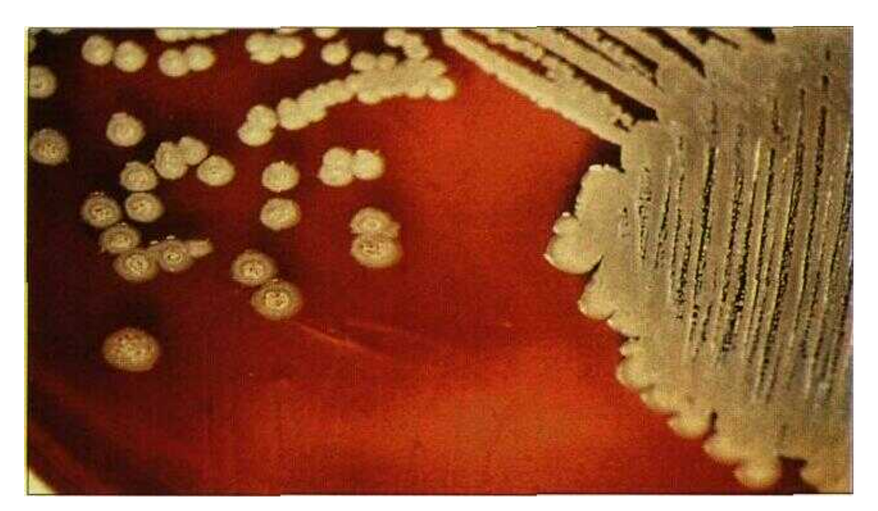
230 *Pseudomonas aeruginosa.* Bactérie non fermentante. L'acidification n'apparaît que dans le tube de gauche (non paraffiné). *(Gélose peptonée, 7 jours à 37 °Q*



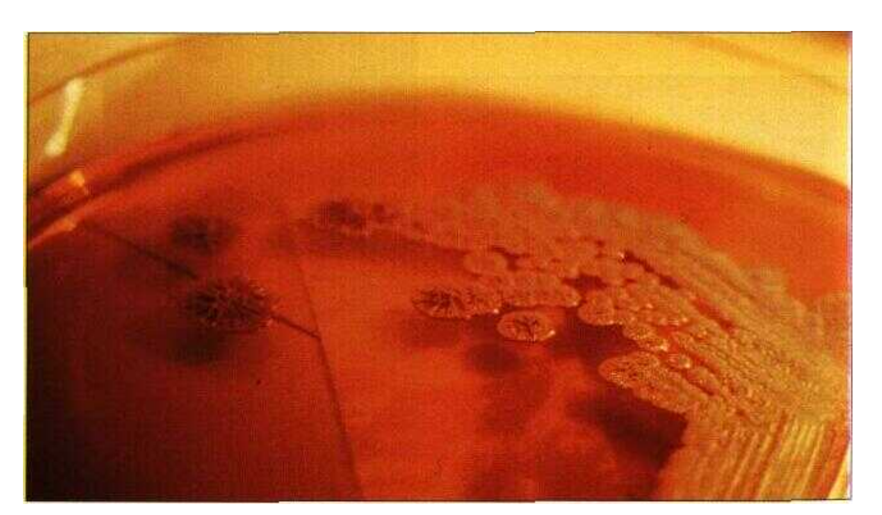
251 ***Burkholderia cepacia*** **(anciennement *Pseudomonas cepacia*).** Pathogène respiratoire d'importance croissante chez les patients atteints de mucoviscidose. La plupart des souches sont multirésistantes aux antibiotiques. 8. cepacia est ensemencé au centre. Une souche de contrôle sensible est ensemencée en périphérie. *(Milieu pour antibiogramme, 18 h à 37 °C)*



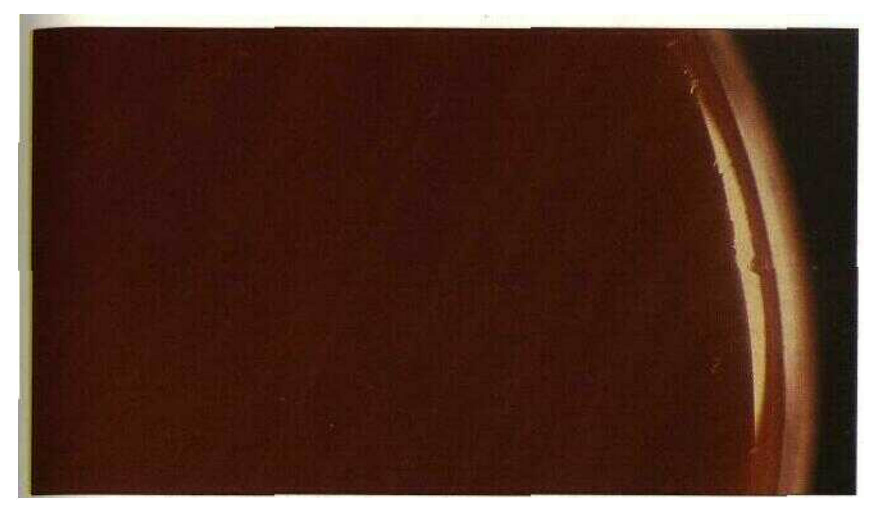
252 ***Burkholderia pseudomallei.*** Coloration de Gram dans une expectoration. Les bactéries sont pléomorphes, à coloration parfois bipolaire. *(Gram, x1000f*



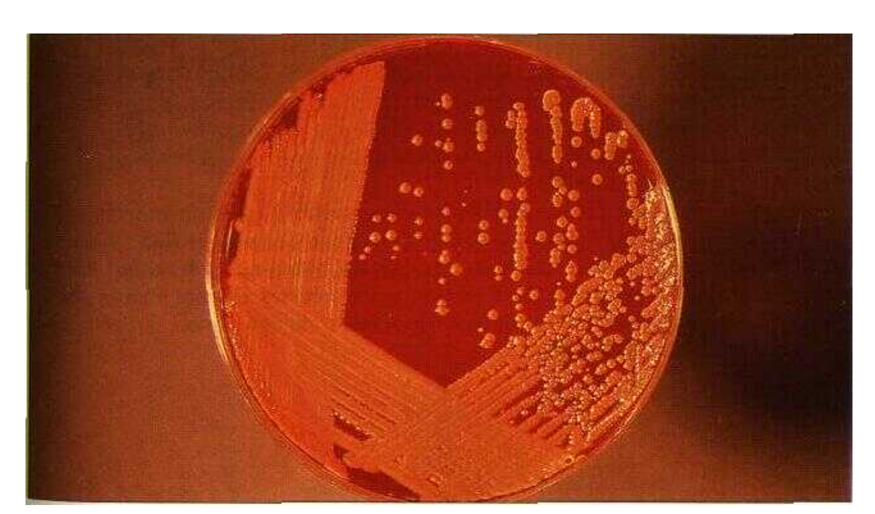
253 *Burkholderia pseudomallei,* gélose au sang. Culture de 72 heures montrant les colonies caractéristiques sèches et ridées Les cultures ont une odeur de truffe *(Gélose au sang 72 h a 37 °Q*



254 *Burkholderia pseudomallei,* milieu de Ashdown. Il s'agit d'un milieu selec tif, contenant du glycerol, du violet cristal et de la gentamicine La morphologie ridée est accentuée par la présence de glycerol *(Milieu de Ashdown, 72 h a 37 °Cj*



255 ***Eikenella corrodens.*** Culture sur gélose au sang produisant des colonies |aunâtres Quand les colonies sont raclées de la gélose, il reste souvent une dépression *(Gélose m sang, 18 h a 37 "Ci*



256 ***Flavobacterium odoratum.*** Culture sur gélose au sang produisant des colonies |aunes caractéristiques Les F/avooacfenum sont largement répandus dans l'environnement et sont occasionnellement pathogènes *F meningosepticum* est parfois responsable de méningite neonatale fGe/ose ou sang, *18 h a 37 "Ci*

BACTERIES ANAEROBIES STRICTES

Les caractères des bactéries anaérobies sont résumés dans les tableaux 257 à **259.**

BACTÉRIES ANAÉROBIES À GRAM POSITIF

Les *Clostridium sont des* bacilles à Gram positif sporulés, et comprennent les agents de la gangrène gazeuse, d'intoxications alimentaires, du tétanos, du botulisme et de colites associées à la prise d'antibiotiques. La figure 260 montre les bacilles à Gram positif en forme de brique de *C. perfringens* dans un prélèvement de gangrène gazeuse. La figure 261 montre des bacilles de C. *tetani,* avec des spores terminales. Les *Clostridium* poussent sur gélose au sang, formant des zones d'hémolyse (262, 263). Les espèces se différencient par leur reaction en milieu de Robertson à la viande cuite (264), sur gélose au lactose, au jaune d'œuf et au lait (265), et par la réaction de Nagler (266). C. *difficile* est impliqué dans des colites post-antibiothérapie. Sur gélose cyclosérine/céfoxitine/fructose (CCFA), il forme des colonies en « éclat de verre » (267,268). La production de toxine par C. *difficile* peut être mise en évidence par un test de cytotoxicité sur culture cellulaire (269) (et surtout par méthode immunoenzymatique, *NdT).*

BACILLES À GRAM NÉGATIF ANAÉROBIES

Bacteroides fragilis est fréquemment isolé lors d'abcès abdominaux **(270).** Les espèces du genre *Bacteroides* se distinguent par leur profil de résistance aux antibiotiques (271) et par leur profil d'acides gras volatils, en chromatographie en phase gazeuse (272). *B. melaninogenicus* (aujourd'hui *Prevotella rnelaninogenica)* forme des colonies brun-noir caractéristiques sur gélose au sang (273).

Les bactéries du genre *Fusobacterium* sont responsables d'infections chroniques (et aiguës, *NdT),* en particulier l'angine de Vincent, infection oro-pharyngée dans laquelle le spirochète *Borrelia vincenti* est également impliqué, aux côtés de *Fusobacterium nucleatum.* Ce sont de fins bacilles à Gram négatif, aux extrémités souvent effilées (274). *F. necrophorum* peut entraîner des infections de la tête et du cou, parfois septicémiques dans les formes graves **(275, 276).**

Bactéries anaérobies obligatoires Infections					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Gram positif					
Clostridium					
C. tetani	tétanos		Oui	3 à 21 jours	
C. perfringens (C. welchii)	gangrène gazeuse, intoxications alimentaires, infections de plaie	fièvre puerpérale, entérite nécrosante infectieuse (*pig bel*)	Non	6 à 24 h 12 à 36 h	
C. botulinum	botulisme, botulisme du nourrisson		Non (il existe une antitoxine)		
C. difficile	colite post-antibiotique	—	Non	—	jusqu'à 4 semaines
Propionibacterium					
P. acnes	infections de prothèse	ostéomyélites, endocardites	Non	—	—
Gram négatif					
Bacteroidaceae					
B. fragilis	infections abdominales, abcès cérébral	pneumopathies	Non	—	—
B. melaninogenicus (Prevotella melaninogenica)	infections de plaies abdominales		Non	—	—
Fusobacterium					
F. nucleatum	angine de Vincent	ulcère tropical	Non	—	—
F. necrophorum	infections ORL	nécrose bacillaire	Non	—	—

257 Bactéries anaérobies strictes. Infections.

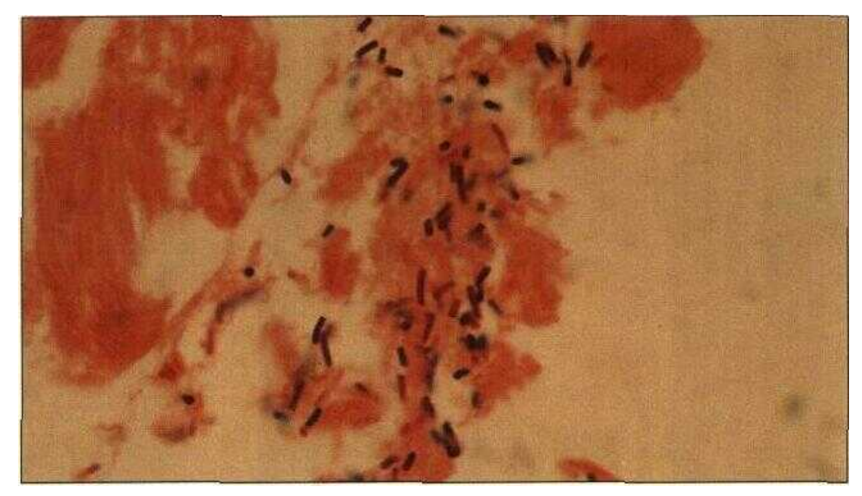
Bactéries anaérobies Sources et modes de transmission								
	Réservoir			Transmission				
Organisme	Homme	Animal	Env.	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Clostridium tetani	–	–	+	–	–	+	–	
C. perfringens	–	+	+	+	–	–	–	
C. botulinum	–	–	+	+	–	–	–	
C. difficile	+	–	±	+	–	±	+	diarrhée post-antibiothérapie
Propionibacterium acnes	+	–	±	–	–	+	+	
Bacteroides fragilis	+	–	–	–	–	+	+	
B. melaninogenicus	+	–	–	–	–	+	+	
Fusobacterium nucleatum	+	–	–	–	–	+	–	
F. necrophorum	+	–	–	–	–	+	–	

258 Bactéries anaérobies strictes. Sources et modes de transmission.

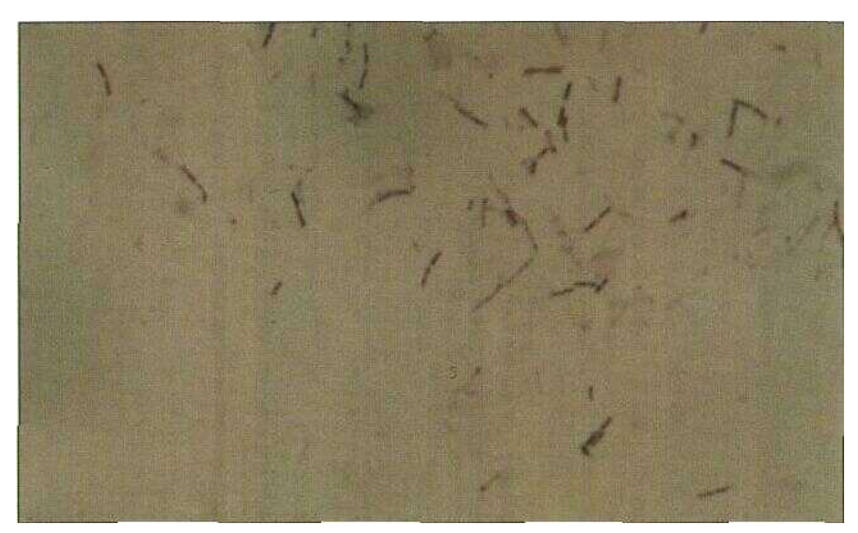
Bactéries anaérobies Caractères d'identification						
Organisme	Coloration de Gram	Culture	Réactions d'identification Culture sur gélose lactosée au jaune d'œuf et au lait Lécithinase	Lipase	Lactose	Protéase
Clostridium tetani	fins bacilles G +, spores terminales,	pousse en nappe sur gélose au sang	–	–	–	–
C. perfringens	bacilles G +	β-hémolyse sur gélose au sang	+	–	+	–
C. botulinum	bacilles G + à spores ovales subterminales	grosses colonies translucides sur gélose au sang	–	+	–	+
C. difficile	bacilles G +	aspect en « verre pilé » sur gélose CCFA[a]				
			Sensibilité aux antibiotiques	Col.	Vanc.	Kan.[b]
Bacteroides fragilis	bacille G – pléomorphe	colonies grises non hémolytiques sur gélose au sang		R	R	R
B. melaninogenicus	bacille G –	colonies brun-noir hémolytiques sur gélose au sang		S	R	R
Fusobacterium nucleatum	bacille G – fusiforme, extrémités effilées	colonies en « miettes de pain » sur gélose au sang		S	R	S
F. necrophorum	bacille G – fusiforme, extrémités arrondies	colonies pâles sur gélose au sang		S	R	S

(a) CCFA : cyclosérine-céfoxitine fructose. (b) Colistine, Vancomycine, Kanamycine; S = sensible, R = résistant.

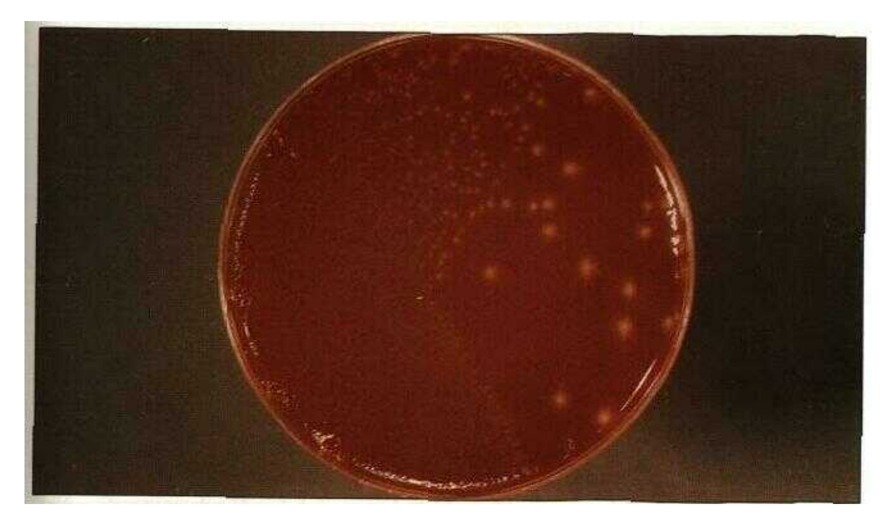
259 Bactéries anaérobies strictes. Caractères d'identification.



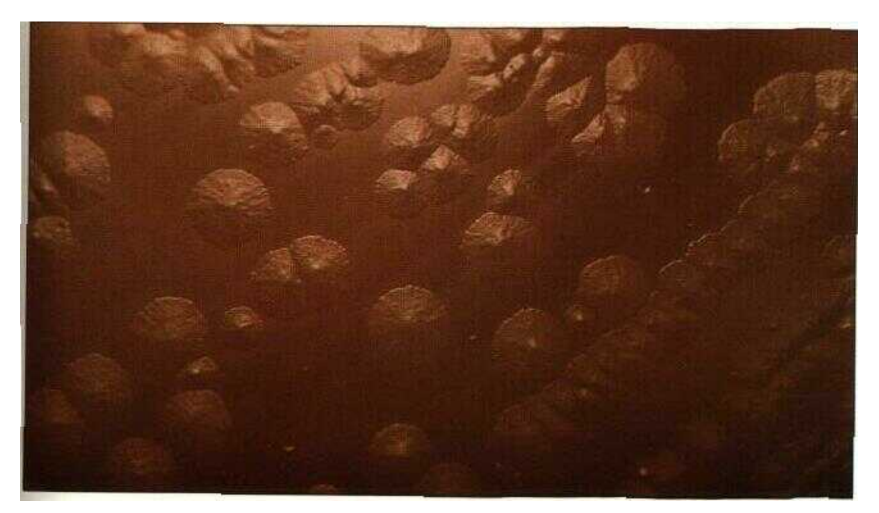
260 ***Clostridium perfringens.*** Coloration de Gram d'un pus de gangrène gazeuse, montrant des bacilles épais à Gram positif, en forme de brique *(Gram, x1000j*



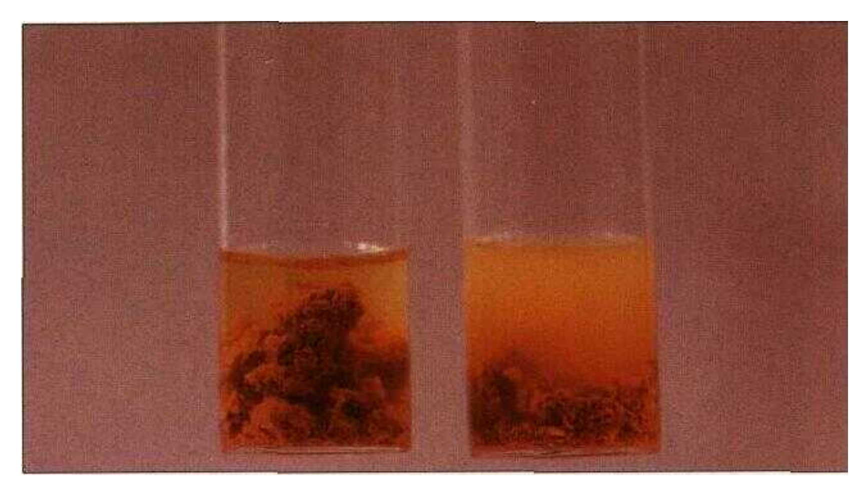
261 ***Clostridium tetani,* Gram.** Fins bacilles à Gram positif à spore terminale Le centre des spores ne prend pas la coloration (Gram, x1000)



262 ***Clostridium perfringens.*** La culture sur gélose au sang montre l'hémolyse 8 Certaines souches produisent une double zone d'hémolyse *(Gélose au sang 24 h à 37 °C en anaérobiosej*



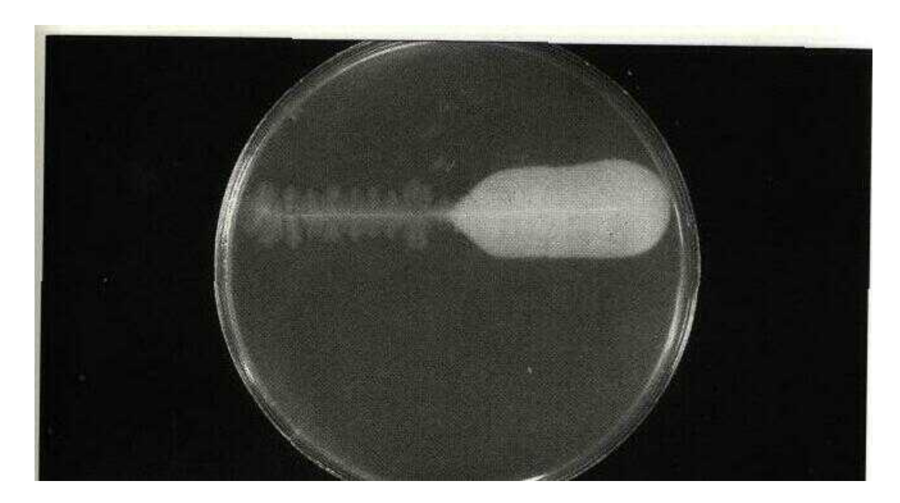
263 ***Clostridium perfringens,* gélose au sang.** Les colonies sont entourées d'un double halo d hémolyse, dû aux différentes toxines présentes. *(Gélose au sang 48 h à 37 °C en anaérobiosej*



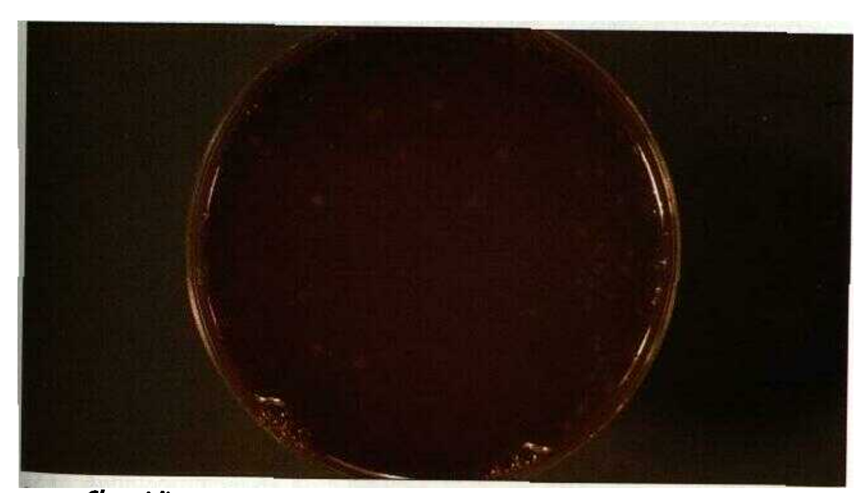
264 *Closfridium perfringens,* milieu de Robertson à la viande cuite. La croissance dans ce milieu (à gauche) provoque une activité saccharolytique (rougissement) et une faible activité protéolytique (noircissement). Il/a également production de gaz. A droite, milieu non ensemencé. *(Milieu à la viande cuite, 24 h à 37 °C)*



265 *Clostridium perfringens,* gélose au lactose, au jaune d'oeuf, et au lait. Sur ce milieu, C. *perfringens* produit des colonies rosés par fermentation du lactose, entourées d'un halo opaque dû à la dégradation de la lécithine *(Gélose au lactose, jaune d'œuf, et lait, 48 h à 37 °C, en anaérobiose)*



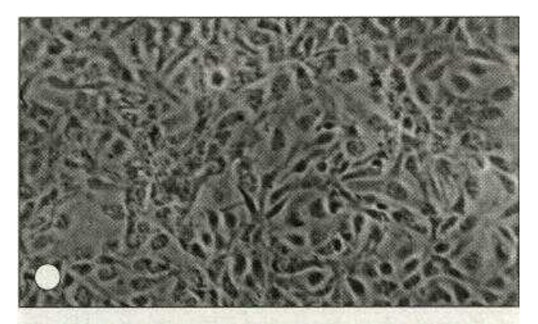
266 Reaction de Nagler. La gélose de Nagler contient un milieu au jaune d'œuf dont une moitié contient de l'antitoxine de C. *perfringens* La souche est ensemencée en strie transversale, passant de la moitié contenant l'antitoxine à celle qui en est dépourvue Après incubation d une nuit en anaérobiose, un résultat positif apparaît, avec l'opacification du milieu autour de la strie dans la partie sans antitoxine A droite, pas d'antitoxine. fGé/ose *de Naaler 18 h a 37 C, en anaérobiose)* '

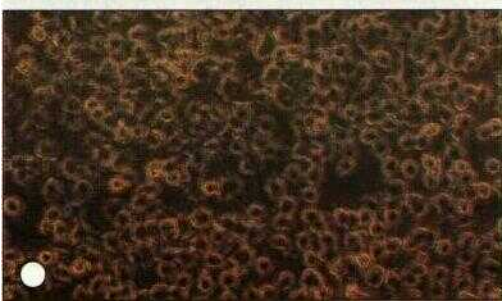


? Ju *Clostridium difficile,* gélose cyclosérine-céfoxitine-fructose (CCFA). C *difficile* est responsable de colite pseudomembraneuse Sur milieu CCFA, les colonies sont orillantes et grises *(Gélose cydosérine-céhxitme-fructose , 48 h à 37 °C, en anaérobiose]*



268 *Clostridium difficile,* gélose CCFA, gros plan des colonies. Aspect métal lique brillant des colonies *(Gélose cydosenne cefoxitine fructose , 48 h a 37 °C, en anaerobiosef*



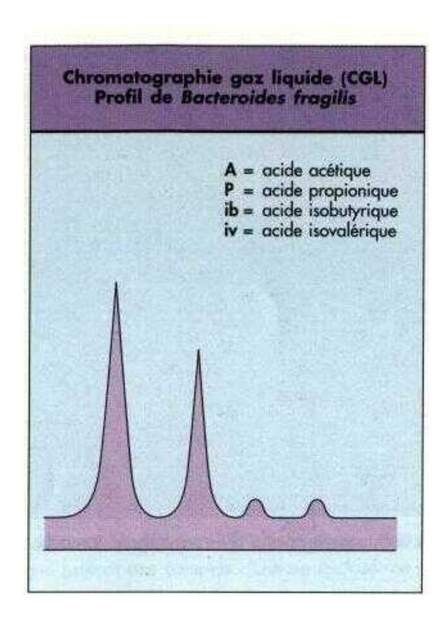


269 Culture tissulaire et action des toxines de *Clostridium difficile.* Les colites et les diarrhées sont **dues** a des souches de C *difficile* productrices de toxines Celles ci peuvent être détectées par leurs effets sur des cellules Vero, après 18 h d'incubation (b), (a) témoin non ensemence *(Cellules Vero, 18 h a 37 °Q*

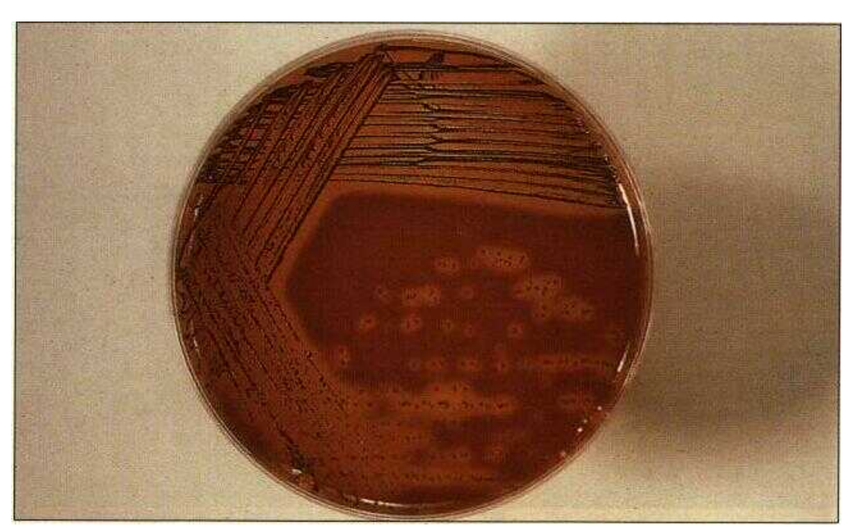


270 ***Bacteroides fragilis,* Gram.** 8 *fragilis* est un petit bacille à Gram négatif, associe a des abcès intra abdominaux *(Qram, x1000)*

271 Antibiogramme de *Bacteroides.* L antibiogramme peut aider a l'identification des espèces de *Bacteroides* Les souches sauvages de B *fragilis* sont résistantes aux pénicillines et aux cephalosponnes, mais sensibles au coamoxyclav et au metronidazole De rares souches peuvent cependant acquérir des résistances multiples, comme ici, au coamoxyclav au metronidazole et a l'erythromycine *(Milieu pour antibiogramme, 48 h a 37 °C, en anaerobiosej*



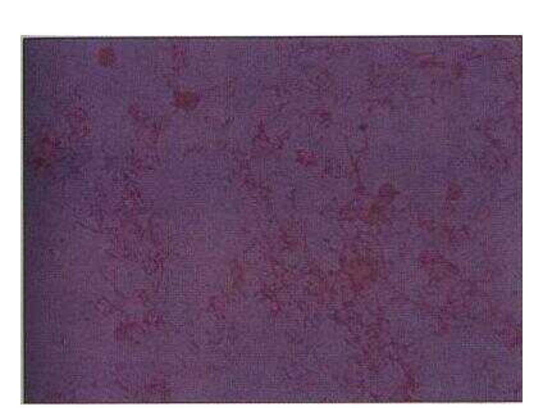
272 Identification de *Bacteroides* par chromatographie en phase gazeuse. Graphe de chromatographie en phase gazeuse (CPG), montrant les pics des principaux acides gras B *fragilis* produit des pics d'acide acétique et d'acide propionique



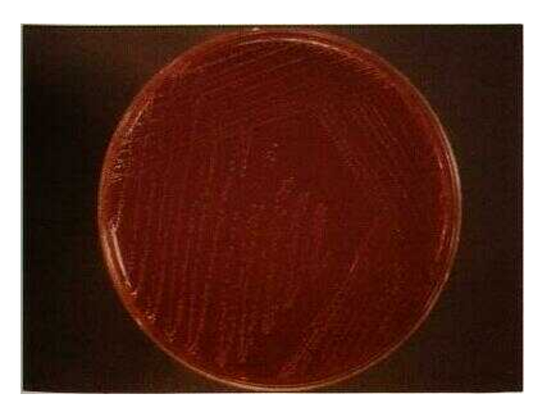
273 *Prevotella melaninogenica* (anciennement *Bacteroides melaninogenicus*). Culture sur gélose au sang montrant les colonies brun-noir après 5 |ours d'incubation *(Gélose au sang, 5 /*ours a 37 °C, en *anaerobiosel*



274 Fusofeocterium *nucleatum,* Gram. Tous les *Fusobactenum* ne sont pas fusi formes Cette coloration de Gram de *F nucleatum* dans une infection maxillaire montre des bacilles a Gram négatif, dont quelques uns ont des extrémités effilées *(Gram, ×1000)*



275 Fusobactenum *necrophorurn.* Coloration de Gram d'hémoculture a *F necro phorum* chez un patient septice-mique, a la suite d'une mastoïdite *[Qram, ×1000)*



276 *Fusobacferium necrophorum,* gélose au sang. Culture montrant de petites colonies claires de F *necrophorum (Gélose au sang, 48 h a 37 °C, en anaérobiose)*

BACTERIES DE CLASSIFICATION INCERTAINE

Un certain nombre de bactéries, en particulier parmi les pathogènes récemment décrits, n'ont pas encore clairement leur place dans la classification traditionnelle. Les caractères de quelques-unes d'entre elles sont résumés dans les tableaux 277 à 279. Beaucoup sont difficiles à cultiver ou biochimiquement assez inertes. *Bartonella bacilliformis* est un germe coccoïde à Gram négatif, agent de la bartonellose, maladie cutanée chronique ou fébrile limitée aux régions andines de l'Amérique du Sud. On peut le mettre en évidence par coloration de Giemsa des frottis sanguins de patients infectés (280) *Bartonella henselae* est un bacille à Gram négatif, récemment décrit comme responsable de la maladie des griffes du chat et de l'angiomatose bacillaire (281).

Bactéries de classification incertaine
Infections

Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation
Spirillum minus	sodoku	-	-	1 à 3 mois
Calymmatobacterium granulomatis	donovanose *(granuloma inguinale)*	-	-	-
Bartonella henselae	angiomatose bacillaire, maladie des griffes du chat	-	-	-
Bartonella bacilliformis	fièvre d'Oroya, *verruga peruana*	-	-	2 semaines à 4 mois
Streptobacillus moniliformis	septicémie après morsure de rat	-	-	3 à 10 jours

277 Bactéries de classification incertaine. Infections.

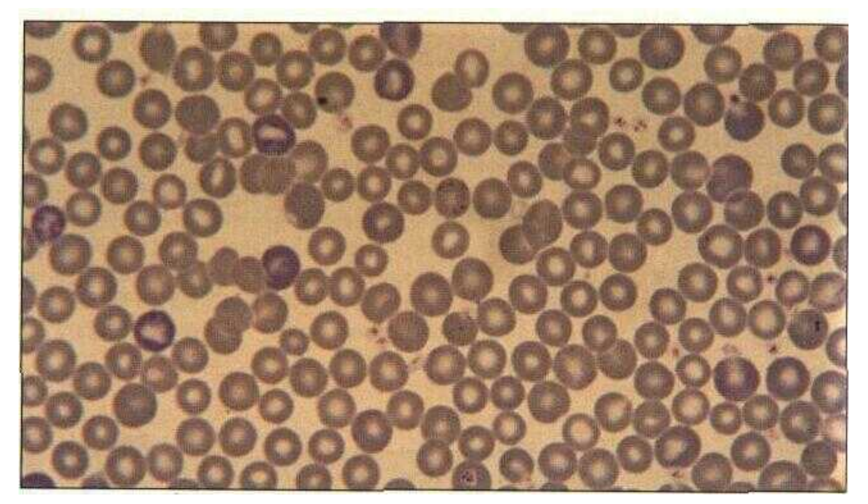
Bactéries de classification incertaine Sources et modes de transmission									
	Réservoir			**Transmission**					
Organisme	Homme	Animal	Env.	Insecte	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Spirillum minus	–	+ rats		–	–	–	–	–	
Calymmato-bacterium granulomatis	+	–	–	–	–	–	+	–	transmission sexuelle
Bartonella henselae	–	+	–	–	–	–	+	–	
Bartonella bacilliformis	+	–	–	+ phébo-tome	–	–	–	–	régions andines du Pérou et de l'Équateur
Streptobacillus moniliformis[a]	–	+	+	–	+	±	–	–	

(a) Infection par morsure ou ingestion d'eau ou de lait souillés.

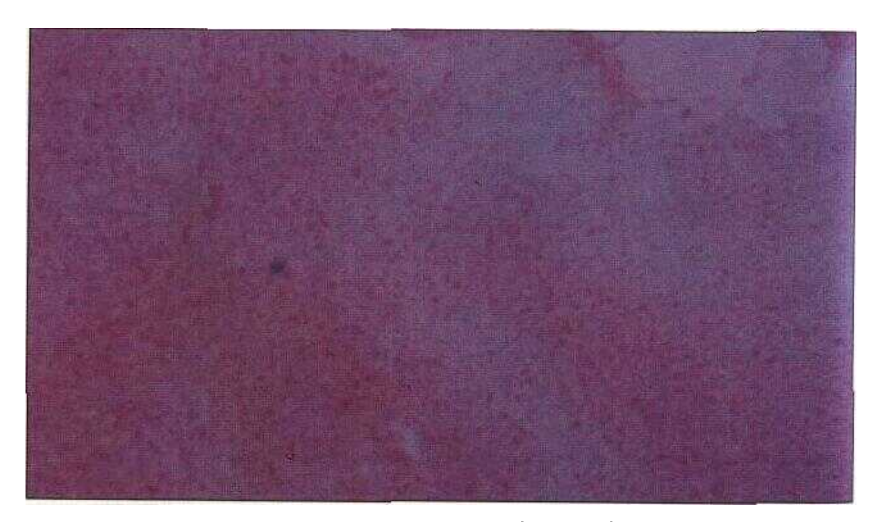
278 **Bactéries de classification incertaine.** Sources et modes de transmission.

Bactéries de classification incertaine Caractères d'identification			
Organisme	Coloration de Gram	Culture	Réactions d'identification
Spirillum minus	bacille épais, spiralé, Gram –	Pas de croissance *in vitro*	
Calymmatobacterium granulomatis	coccobacille Gram –	Culture difficile sur milieu au jaune d'œuf	
Bartonella henselae	bacille Gram –		
Bartonella bacilliformis	coccobacille Gram –	Colonies blanches sur gélose au sang en 7 à 14 jours	Biochimiquement inerte. Diagnostic sur frottis sanguin, coloration de Giemsa
Streptobacillus moniliformis	coccobacille pléomorphe Gram –	Colonies non hémolytiques sur gélose au sang	Indole –, oxydase –, catalase –, nitrate réductase –

279 **Bactéries de classification incertaine.** Caractères d'identification.



280 Coloration de Giemsa d'un frottis sanguin mettant en évidence *Bartonella bacilliformis* chez un patient atteint de la fièvre d'Oroya. Le frottis montre les coccobacilles intracellulaires colorés en violet foncé. 8. *bacilliformis* se multiplie dans les globules rouges, entraînant leur destruction et une anémie. *(Giemsa, ×1000)*



281 *Bartonella henselae, Gram.* Coccobacilles à Gram négatif. 8. *henselae* peut être responsable de la maladie des griffes du chat, et est l'agent de l'angiomatose bacillaire. *(Gram, ×1000)*

MYCOBACTERIES

Les caractères des mycobactéries sont résumés dans les tableaux **282 à 284.** On trouve parmi les mycobactéries les agents de la tuberculose et de la lèpre, ainsi que des germes de l'environnement, qui sont des pathogènes opportunistes. Les mycobactéries sont colorées par la méthode de ZiehI-Neelsen en bacilles acido-alcoolo-résistants rosés (285) On utilise également une coloration à l'auramine phéniquée (286). Les mycobactéries ont des exigences nutritionnelles empêchant leur croissance sur milieux ordinaires. Le milieu de Lôwenstein-Jensen (LJ) contient, entre autres, de l'œuf, du glycérol et du vert malachite. La plupart des mycobactéries poussent lentement, ne produisant de colonies visibles qu'en 4 à 12 semaines. La figure **287** montre une culture de 6 semaines de M *tuberculo sis* sur milieu LJ, avec un aspect typique en miettes de pain. *M. bovis* pousse mieux sur pente de LJ contenant de l'acide pyruvique au lieu du glycérol (288) Les figures **289** et **290** montrent les cultures sur pentes de U de mycobactéries dites « atypiques », M *kansasii* et une mycobactérie du groupe *avium-intracellulare.* Les espèces se différencient par les effets de la température sur leur croissance, la production de pigment, ou la vitesse de pousse. Les figures **291 à 293** montrent des mycobactéries à spectre de température étroit ou large. Les mycobactéries sont soit non pigmentées (non chromogènes), soit pigmentées sous l'action de la lumière (photochromogènes) (294), soit encore pigmentées, y compris à l'abri de la lumière (scotochromogènes) (295) La figure **296** montre l'aspect après 7 jours de cultures de mycobactéries à croissance lente *(M. tuberculosis)* et rapide *(M. fortuitum).* La figure **297** montre une coloration de ZiehI-Neelsen de *M. leprae* sur un frottis de biopsie cutanée.

Mycobactéries Infections					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Mycobacterium tuberculosis	tuberculose	–	±	4 à 12 semaines	indéfiniment si forme pulmonaire non traitée
M. bovis	tuberculose	–	±	4 à 12 semaines	–
M. ulcerans	ulcérations cutanées profondes	–	–		–
M. kansasii	infection pulmonaire	–	–		–
M. marinum	ulcération des aquariophiles	–	–		–
M. scrofulaceum	lymphadénopathie cervicale	–	–		–
M. malmoense	" "	–	–		–
M. avium-intracellulare	infection disséminée chez l'immunodéprimé	–	–		–
M. chelonei	infection cutanée occasionnelle après un traumatisme mineur	–	–		–
M. gordonae	" " "	–	–		–
M. xenopi	infections pulmonaires *	–	–		–
M. fortuitum	abcès	–	–		–
M. leprae	lèpre	–	–	4 à 8 ans	indéfiniment si pas de traitement

282 Mycobactéries. Infections.

* Colonisation de cavernes tuberculeuses, *NdT.*

Mycobactéries Sources et modes de transmission								
	Réservoir			Transmission				
Organisme	Homme	Animal	Env.	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentair
Mycobaterium tuberculosis	+	–	–	–	+	–	+	
M. bovis		+	–	+	±			
M. ulcerans			+			+		
M. kansasii	+		+		+			
M. marinum			+			+		
M. scrofulaceum			+	(+)	+	+		
M. malmoense			+			+		
M. avium-intracellulare	+	+			+			
M. chelonei			+			+		
M. gordonae			+			+		
M. xenopi			+			+		
M. fortuitum			+			+		
M. leprae	+	–	–	–	(+)	+	–	

283 Mycobactéries. Sources et modes de transmission

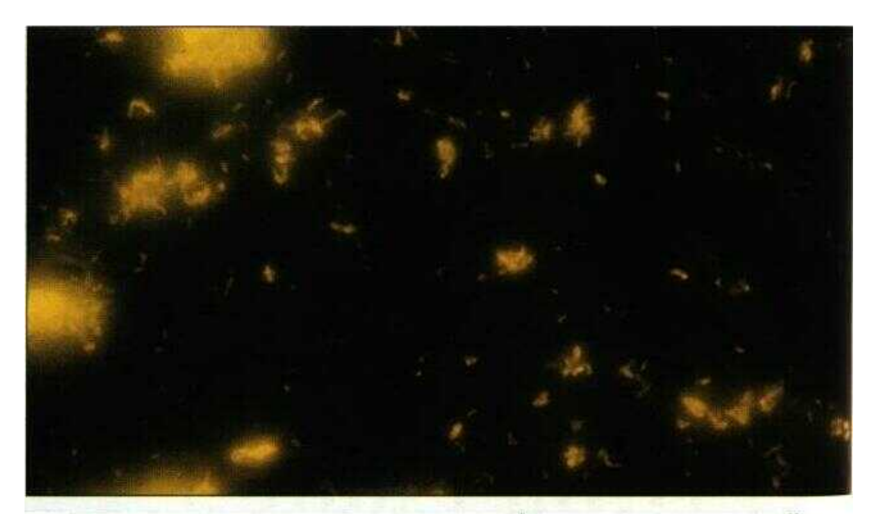
Caractéristiques de croissance des mycobactéries								
	Taux	Température				Production de pigment		
		25 °C	32 °C	36 °C	44 °C	N*	P*	S*
Mycobacterium tuberculosis	L	–	+	+	–	+	–	–
M. bovis	L	–	(+)	+	–	+	–	–
M. ulcerans	L	–	+	–	–	+	–	–
M. kansasii	L	+	+	+	–	–	+	–
M. marinum	L	+	+	±	–	–	+	–
M. scrofulaceum	L	+	+	+	–	–	–	+
M. malmoense	L	+	+	+	+	+	–	–
M. avium-intracellulare	L	+	+	+	+	+	–	+
M. chelonae	R	+	+	+	–	+	–	–
M. gordonae	L	+	+	+	–	–	–	+
M. xenopi	L	–	–	+	+	–	–	+
M. fortuitum	R	+	+	+	–	+	–	–
M. leprae	L(a)							

L = pousse lente. R = pousse rapide. L(a) = non cultivable sur milieu artificiel
N* = non chromogène. P* = photochromogène. S* = scotochromogène

284 Caractéristiques de croissance des mycobactéries.



285 ***Mycobacterium tuberculosis.*** Coloration de Ziehl-Neelsen de l'expectoration d'un patient tuberculeux, montrant des bacilles acido-alcoolo-résistants rosés sur un fond bleu de débris cellulaires. *(Ziehl-Neelsen, ×1000)*



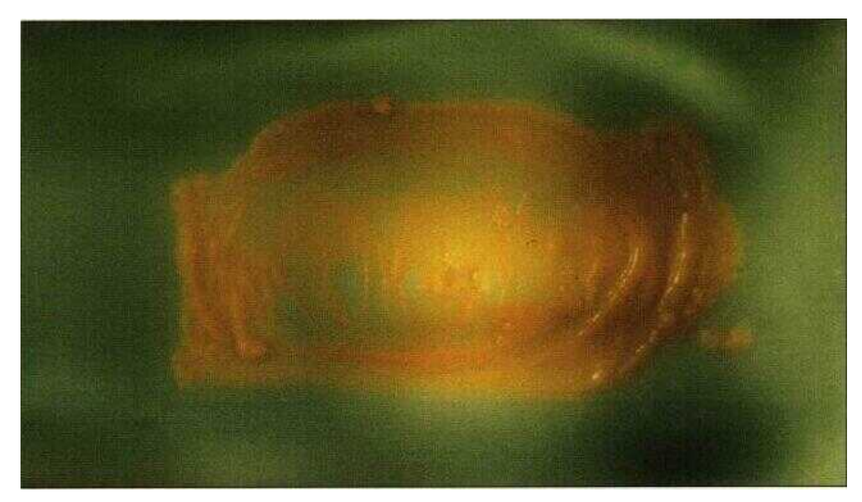
286 ***Mycobacterium tuberculosis,* coloration à l'auramine phéniquée.** L'auramine est un fluorochrome, c'est-à-dire un colorant fluorescent quand il est illuminé par la lumière UV Les bacilles tuberculeux sont blanc-jaune fluorescent. *(Auramine phéniquée, xlOOO)*



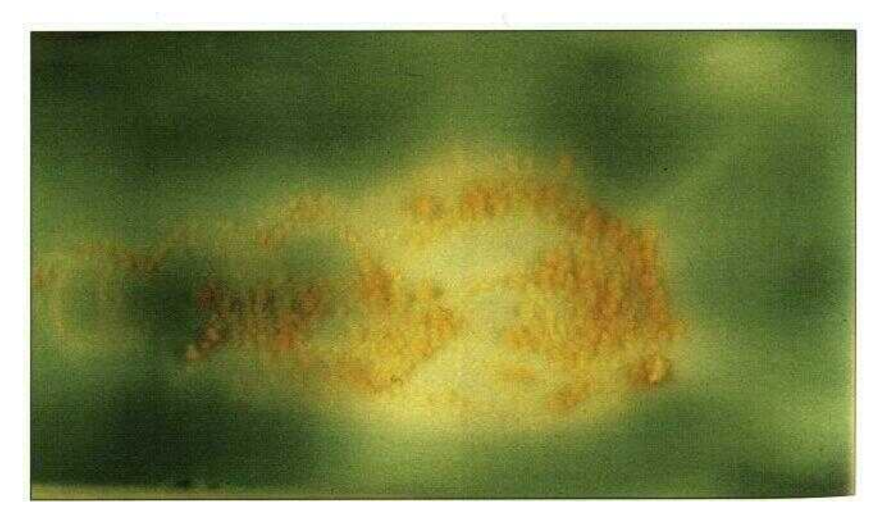
287 *Mycobacterium tuberculosis,* milieu de Lowenstein-Jensen (U). Culture de six semaines Les mycobactéries forment des colonies crémeuses, en miettes de pain. *(Milieu de Lowenstein-Jensen, 6 semaines à 37 °C)*



288 *Mycobacterium bovis,* milieu de U. Culture sur un milieu contenant du glycérol (à droite), et du pyruvate (à gauche) *M. bovis* pousse mieux sur la pente au pyruvate *(Milieu de Lowenstein-Jensen, 6 semaines à 37 °Q*

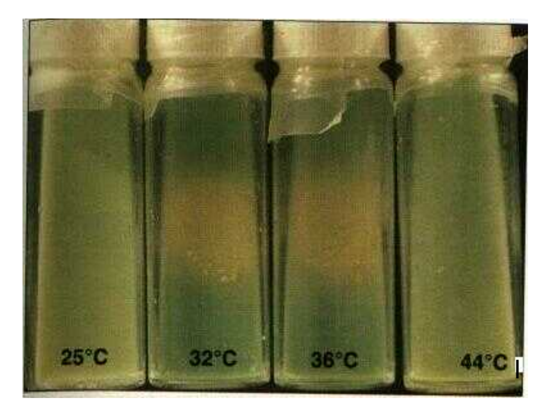


289 ***Mycobacterium kansasii,*** **milieu de LJ.** Bactérie opportuniste, occasionnellement responsable d'une infection pulmonaire voisine de la tuberculose. *M. kansasii* est un photochromogène. *{Milieu de Löwenstein-Jensen, 6 semaines à 37 °C)*



290 ***Mycobacterium*** **du complexe** ***avium-intracellulare,*** **milieu de LJ.** Pathogène potentiel des patients immunodéprimés, en particulier sidéens. (Mi/ieu de *Lôwenstein-Jensen, 6 semaines à 37 °C)*

291-293 Effets de la température sur la croissance des mycobactéries. Les différentes mycoboctéries poussent à des gammes de température différentes. Les pentes de Löwenstein-Jensen ont été incubées à 25 °C, 32 °C, 36 °C et 44 °C. *{Milieu de Lôwensfein-Jensen, températures comme indiqué)*



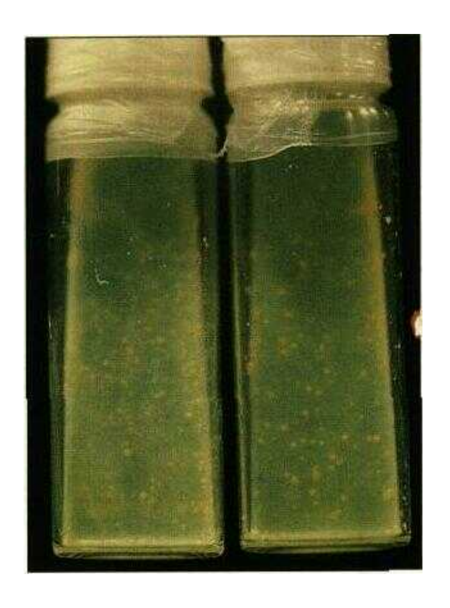
291 *M. tuberculosis,* pousse à 32 °C et 36 °C.



292 *M. kansasii,* pousse à 25 °C, 32 °C et 36 °C.

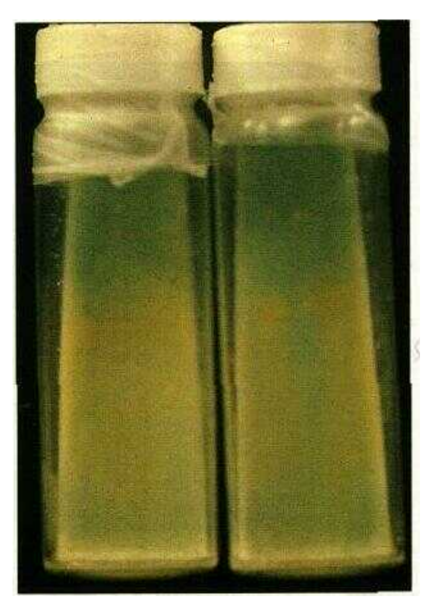


293 ***M. malmomse,* pousse à 25 °C, 32 °C, 36 °C et 44 °C.**



294-295 Effets de la lumière sur les mycobactéries. Les mycobactéries qui ne produisent pas de pigment sont dites non chromogènes. Celles qui produisent un pigment à la lumière sont dites photochromogènes Celles qui produisent un pigment à la lumière et dans l'obscurité sont dites scotochromogènes Sur ces clichés, le milieu en pente de gauche a poussé dans l'obscurité, et celui de droite à la lumière. *(Milieu de Lôwenstein-Jensen à 37 °C)*

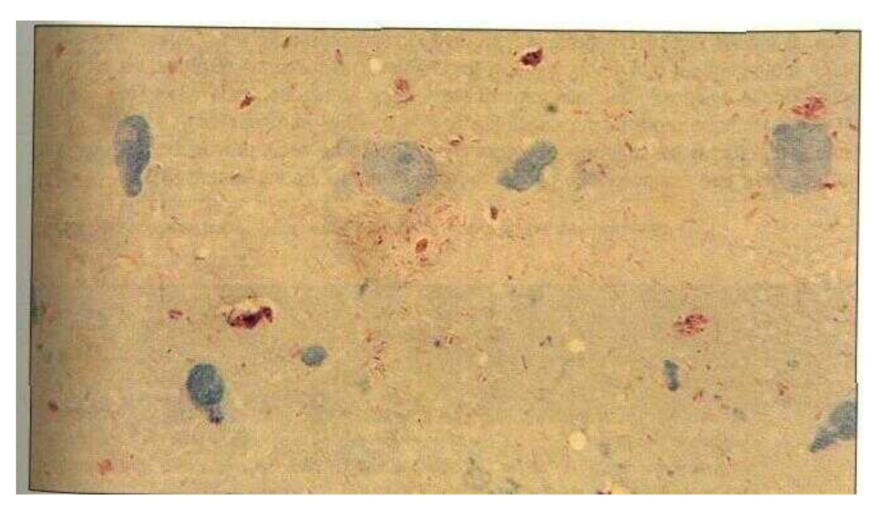
294 ***M. kansasii,*** **photochromogène.**



295 ***M. gordonae,*** **scotochromogène.**



296 Vitesse de croissance des mycobactéries. On peut séparer les mycobactéries en espèces à pousse rapide et lente. Celles à croissance rapide forment des colonies en 4 à 5 jours La plupart des mycobactéries nécessitent 3 à 4 semaines pour qu'apparaissent des colonies visibles. Les milieux en pente ont été incubés 7 jours. A droite, *M. tuberculosis,* pas de pousse; à gauche, *M forfuitum, à* croissance rapide. *(Milieu de Löwenstein-Jensen à 37 °C]*



***297 Mycobacterium leprae,* coloration de Ziehl-Neelsen.** *M leprae* peut être mis en évidence sur frottis de biopsie cutanée par une coloration de ZiehI-Neelsen modifiée. Cette bactérie est faiblement acido-alcoolo-résistante, et la solution de décoloration d'acide-alcool doit être à 1 % au lieu de 3 % *M. leprae* apparaît comme un fin bacille rosé, souvent intramacrophagique. *(Ziehl-Neelsen, x1000)*

MYCOPLASMES, SPIROCHÈTES ET RICKETTSIES

Les caractères des mycoplasmes et de *Ureaplasma lirealyticum* sont résumés dans les tableaux **298 à 300,** ceux des spirochètes dans les tableaux **302 à 304,** et ceux des rickettsies et de *Coxiella burnetii* dans le tableau **309 a à c.**

Les mycoplasmes ne sont pas directement détectables **par coloration des échantillons.** Ils poussent lentement et produisent de petites colonies **sur milieu sélectif, après** plusieurs jours d'incubation **(301).**

Les spirochètes sont des organismes spirales mobiles, difficilement cultivables en routine au laboratoire. Les trois genres d'importance médicale sont *Treponema, Leptospira,* et *Borrelia. Treponema pallidum,* agent de la syphilis, est visible en microscopie à fond noir sous la forme d'un spirochète étroitement spirale (305). Le diagnostic de syphilis est généralement sérologique. Parmi les anticorps produits, certains sont spécifiques du tréponème et d'autres sont spécifiques d'un haptène (le cardiolipide), présent chez *T. pallidum,* mais aussi dans certaines cellules bactériennes et animales *(NdT).* Les réactions de type VDRL-charbon **(306)** permettent la mise en évidence des anticorps anti-cardiolipide (anciennement désignés sous le nom de réagines).

Leptospira interrogans, agent de la leptospirose, est observable en microscopie à fond noir, après coloration argentique, ou encore en immunofluorescence **(307).** *Borrelia* reçu/Tenus, responsable de fièvres récurrentes, peut être vu sur frottis sanguin de patient infecté, après coloration de May-Grûnwald-Giemsa (308).

Les rickettsies et *Coxiella burnetii* sont des parasites intracellulaires obligatoires cultivables seulement sur œuf embryonné ou sur cellules. Des réactions sérologiques sont utilisées pour le diagnostic des infections rickettsiennes. La réaction de Weil et Félix est un test non spécifique reposant sur l'agglutination de souches particulières de *Proteus mirabilis* et *vulgaris* par les anticorps anti-rickettsie **(310).** La fièvre Q, provoquée par *Coxiella burnetii,* peut être diagnostiquée par réaction de fixation du complément (311).

Mycoplasma et Ureaplasma Infections					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Mycoplasma pneumoniae	Pneumopathie, trachéobronchite	myocardite	-	6 à 21 jours	jusqu'à 14 jours
M. hominis	Uréthrite, infection post-partum, salpingite	infection de plaie, méningite néonatale	-	-	-
Ureaplasma urealyticum	Uréthrite	-	-	-	-

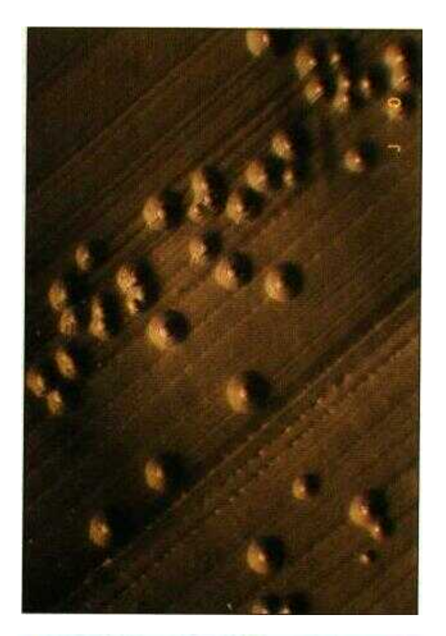
298 ***Mycoplasma* et *Ureaplasma.*** Infections.

Mycoplasma Sources et modes de transmission								
	Réservoir			Transmission				
Organisme	Homme	Animal	Env.	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Mycoplasma pneumoniae	+	-	-	-	+	-	-	
M. hominis	+	-	-	-	-	+	-	
Ureaplasma urealyticum	+	-	-	-	-	+	-	

299 Mycoplasmes. Sources et modes de transmission des bactéries.

Mycoplasma Caractères d'identification			
Organisme	Microscopie	Culture	Réactions d'identification
Mycoplasma pneumoniae	Petites bactéries pléomorphes immobiles non détectables à l'examen direct d'échantillons colorés	Sur milieux enrichis De petites colonies en « œuf au plat » apparaissent en quelques jours	Diagnostic sérologique par inhibition de fixation du complément ou ELISA
M. hominis			
Ureaplasma urealyticum			

300 Mycoplasmes. Caractères d'identification.



301 Culture de *Mycoplasma hominis.* Un gros plan montre les colonies en « œuf au plat », sur un milieu enrichi *Ipleuropneumonia Ilke organisms,* PPLO) *(Milieu PPLO, S lours à 37 °Cj*

Spirochètes
Infections

Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Treponema					
T. pallidum	syphilis		–	1 à 6 semaines	2 à 4 ans si non traité
T. pertenue	pian	–	–	2 semaines à 3 mois	plusieurs années si non traité
T. carateum	pinta	–	–	2 à 3 semaines	plusieurs années si non traité
Leptospira					
L. interrogans	leptospirose (maladie de Weil)	–	–	4 à 20 jours	transmission interhumaine rare
Borrelia					
B. vincenti	angine de Vincent	ulcère tropical	–	–	–
B. recurrentis	fièvre récurrente à poux	–	–	5 à 15 jours	–
B. duttoni	fièvre récurrente à tiques		–	5 à 15 jours	–
B. burgdorferi	maladie de Lyme		–	3 à 30 jours	–

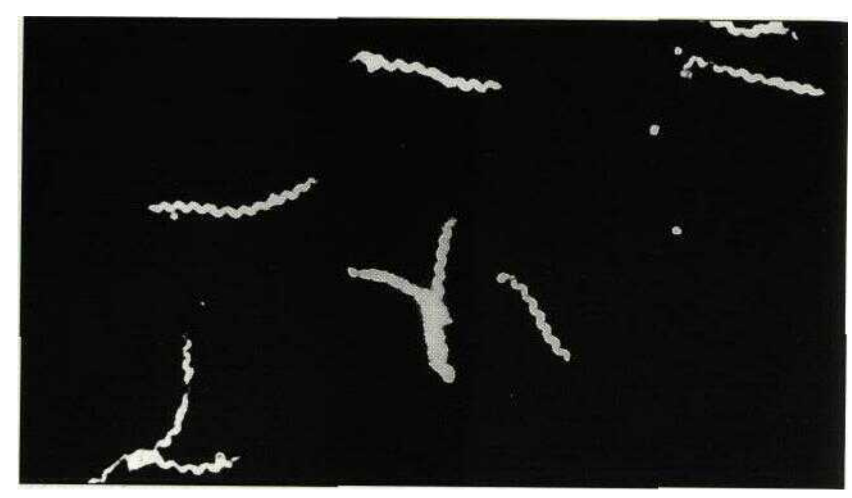
302 Spirochètes. Infections.

Spirochètes Sources et modes de transmission									
	Réservoir			Transmission					
Organisme	Homme	Animal	Env.	Insecte	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Treponema pallidum	+	–	–	–	–	–	+	–	
T. pertenue	+	–	–	–	–	–	+	–	
T. carateum	+	–	–	–	–	–	+	–	Amérique latine uniquement
Leptopsira interrogans	–	+	+	–	+	–	+	–	plus de 20 sérotypes
Borrelia vincenti	+	–	–	–	–	–	–	–	
B. recurrentis	+	–	–	+	–	–	–	–	
B. duttoni	–	+	–	+	–	–	–	–	
B. burgdorferi	–	+	–	+	–	–	–	–	

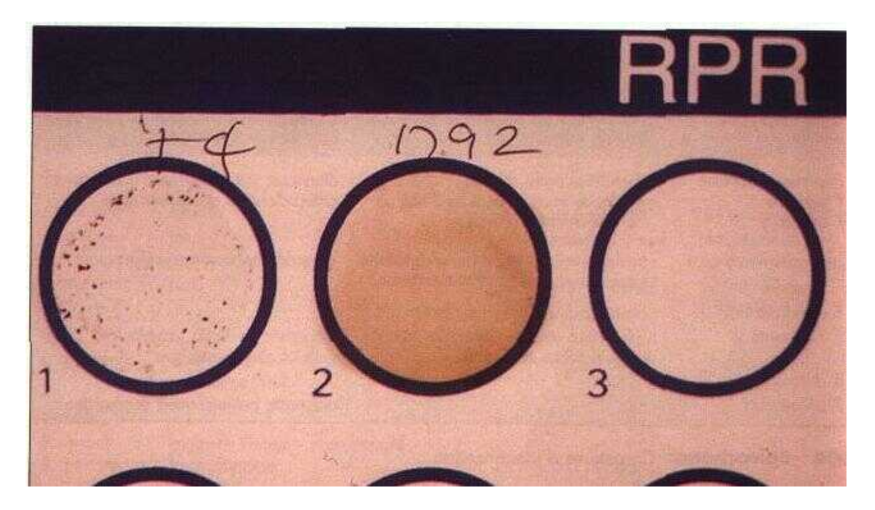
303 Spirochètes. Sources et modes de transmission des bactéries

Spirochètes Caractères d'identification		
Organisme	Microscopie	Réactions d'identification
Treponema pallidum *T. pertenue* *T. carateum*	spirochètes droits spiralés visibles au microscope à fond noir sur échantillons d'ulcération	diagnostic par recherche d'anticorps anticardiolipide et antitréponème
Leptospira interrogans	enroulements serrés avec extrémités en crochets, visibles au microscope à fond noir sur échantillons d'urine ou de LCR	diagnostic habituellement sérologique
Borrelia vincenti	aspect ondulé, Gram – sur frotis	
B. recurrentis	spirochètes ondulés visibles sur frottis sanguin coloré au Giemsa	diagnostic sur frottis sanguin et symptomatologie clinique
B. duttoni	" "	" "
B. burgdorferi	—	diagnostic habituellement sérologique

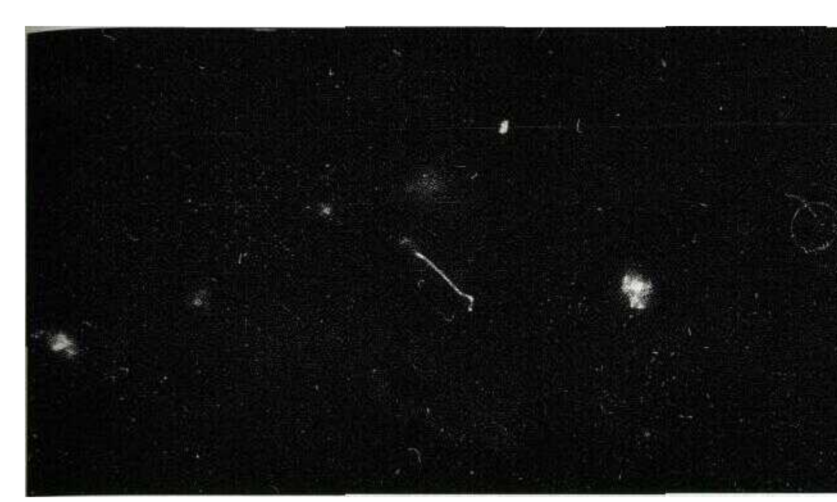
,304 Spirochètes. Caractères d'identification.



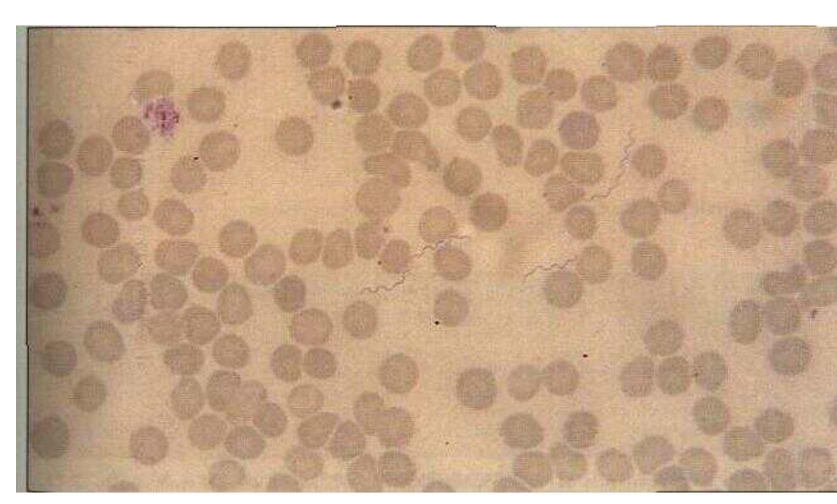
305 *Treponema pallidum* en microscopie à fond noir. *T. pallidum* apparaît comme un spirochète raide, à l'enroulement serré *(Fond noir, x1000)*



306 Diagnostic sérologique de la syphilis par un test de type VDRL-charbon. Il s'agit d'une recherche d'anticorps à l'aide d'un antigène cardiolipidique (ne provenant pas d'un spirochète), positive dans les premiers stades de la maladie. Le sérum du patient est mélangé à une préparation commerciale de cardiolipide sur des particules de charbon. Une réaction positive provoque la coalescence des particules antigéniques. *(Agglutination après 4 min)*



307 *Leptospira interrogans* en microscopie à fond noir. Les leptospires sont des spirochètes raides, à l'enroulement serré et aux extrémités caractéristiques en crochet. Ils sont responsables de zoonoses, et de leptospirose ou maladie de Weil chez l'homme. *(Fond noir, x1000)*



308 Coloration de Giemsa de *Borrelia recurrentis* dans le sang d'un patien atteint de fièvre récurrente. Les *Borellia* sont d'assez grands spirochètes ondulés, rouge-mauve à la coloration de Giemsa *(Giemsa, x1000j*

Rickettsia et Coxiella Infections					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Rickettsia typhi	typhus endémique (murin)	-	-	1 à 2 semaines	pas de transmission directe interhumaine
R. prowazekii	typhus exanthématique (poux)	-	(+)	1 à 2 semaines	infection des poux pendant la période fébrile
R. tsutsugamushi	« scrub » typhus (typhus des broussailles)	-	-	6 à 21 jours	pas de transmission interhumaine
R. rickettsii	fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses	-	-	3 à 14 jours	infectivité des tiques jusqu'à 18 mois
Coxiella burnetii	fièvre Q, pneumopathie	endocardite	±	2 à 3 semaines	-

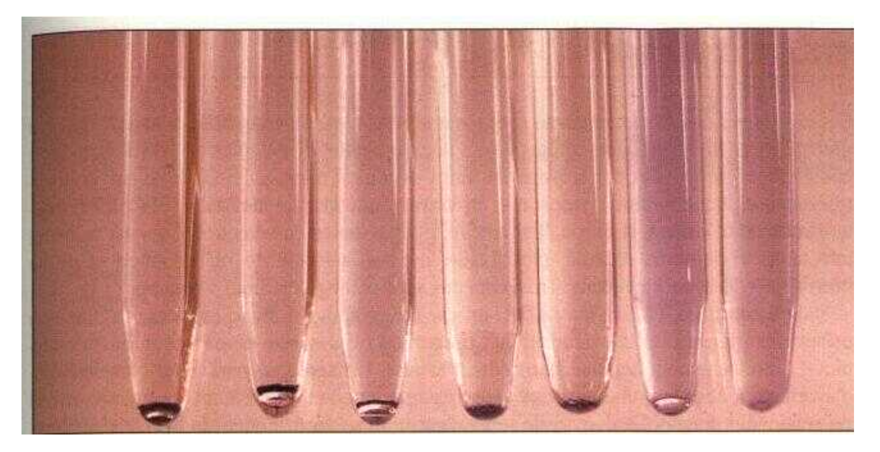
309a Rickettsies et *Coxiella.* Infections

Rickettsia et Coxiella Sources et modes de transmission									
	Réservoir			Transmission					
Organisme	Homme	Animal	Env.	Insecte	Ingestion	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Rickettsia typhi	-	+	-	+ (puce)	-	-	-	-	
R. prowazekii	+	-	-	+ (pou)	-	-	-	-	
R. tsutsugamushi	+	+	-	+ (acarien)	-	-	-	-	
R. rickettsii	-	+	-	+ (tique)	-	-	-	-	
Coxiella burnetii	-	+	-	-	±	+	-	-	

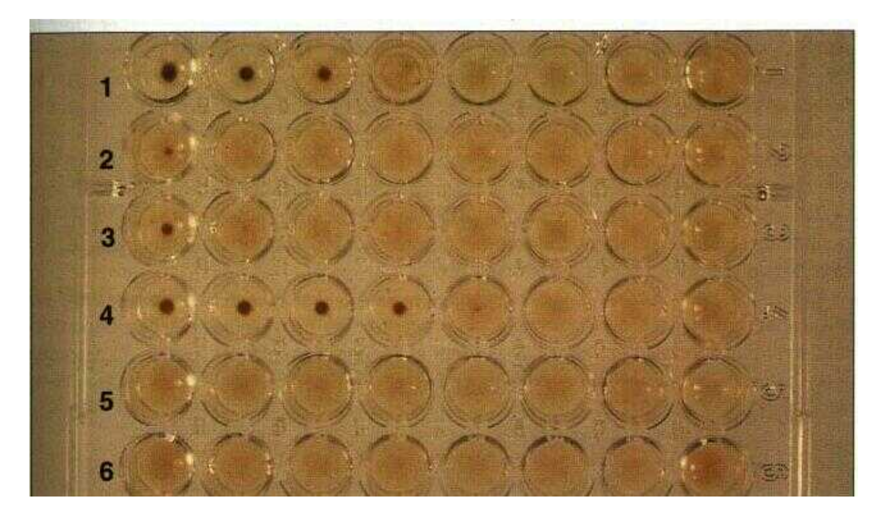
309b Rickettsies et *Coxiella.* Sources et modes de transmission

Rickettsia et Coxiella Caractères d'identification					
Organisme	Microscopie	Sérologie	Réaction de Weil-Felix		
			OX-19	OX-2	OX-K
Rickettsia typhi	coccobacillles à Gram – pléomorphes	diagnostic par inhibition de fixation du complément ou réaction de Weil-Felix	+	±	–
R. prowazekii			+	±	–
R. tsutsugamushi			–	–	±
R. ricketsii			+	+	–
Coxiella burnetii			–	–	–

309e Rickettsies et *Coxiella.* Caractères d identification



310 Reaction de Weil et Félix dans les infections rickettsiennes. Les anticorps anti nckettsie reagissent avec certaines souches de *Proteus vulgans* et de *Profeus mirabilis* Le sérum du patient est incube en présence de solutions commerciales colorées d antigènes et l'on recherche les agglutinations On réalise des dilutions sériées de 1 20 a 1 1280 Le sérum de ce patient réagit (ici avec 1 antigène de *Proteus vulgans* OX 19) |usqu a un titre de 1 320 *(Incubation de 4 h a 50 °Cf*



311 Reaction de fixation du complément pour le diagnostic d'infection à *Coxiella burnetii.* La rangée 4 contient des dilutions sériées (de 1 8 a 1 512 et témoin) de sérum du patient reagissant contre l antigène de phase 1 de *Coxiella burnetii* |usqu a un titre de 1 64 *(Incubation de 18 h a +4 °C, aiout des hématies et incubation pendant 30 min a* 37 °a

CHLAMYDIACEAE

Les caractères des *Chiamydiaceae* sont résumés dans les tableaux **312a, b** et **313.** Ce sont des bactéries intracellulaires obligatoires. Elles possèdent de l'ADN et de l'ARN, une paroi cellulaire, et se divisent par scissiparité Elles pénètrent dans la cellule hôte par endocytose et se répliquent dans l'endosome, en formant une grande inclusion (314). Elles existent sous deux formes, le corps élémentaire, petit et dense aux électrons, qui est la forme infectante, et le corps réticulé, plus fragile, qui est la forme de reproduction et ne se trouve que dans les inclusions. Trois espèces sont pathogènes pour l'homme.

Malgré son nom, *Chiamydia psittaci* infecte une grande variété d'espèces, en plus des psittacidés (perroquets et perruches). C. *psittaci* est responsable d'une pneumopathie atypique, habituellement acquise par contact aviaire. Un sérotype particulier (responsable d'avortement chez la brebis) est une cause exceptionnelle d'avortement, de prématurité et de septicémie foetale. Le diagnostic repose sur la mise en évidence de l'agent infectieux dans les tissus par immunofluorescence ou sur la sérologie. La culture est possible par inoculation du sac vitellin d'œuf de poule fécondé, et requiert des installations confinées de haute sécurité biologique.

Les souches des sérotypes A à C de *Chiamydia trachomatis* sont à l'origine du trachome, première cause infectieuse de cécité dans les pays en voie de développement. Les souches des sérotypes D à K sont responsables de maladies sexuellement transmissibles, de distribution mondiale. L'infection peut être inapparente (en particulier chez la femme), ou entraîner urétrite, cervicite, ou épididymite (chez l'homme). L'extension au haut appareil génital provoque des salpingites chez la femme C'est la première cause de maladies transmises sexuellement depuis le recul de la gonococcie. Lorsqu'un enfant naît en passant par un col infecté, il y a 50 % de chance qu'il développe une conjonctivite néonatale à inclusions, puis éventuellement une pneumopathie. La culture sur cellules épithéliales (ex. cellules McCoy) permet le diagnostic, mais nécessite jusqu'à 72 heures pour visualiser les inclusions caractéristiques (315). Des tests plus rapides sont maintenant disponibles, par ELISA ou immunofluorescence directe (316) (et biologie moléculaire, par hybridation avec des sondes nucléiques, *NdT).*

Chiamydia pneumoniae, auparavant appelée TWAR (Ta; Wan Acute *R.espiratory)* est une espèce pathogène de découverte plus récente. Elle est responsable de pneumopathie atypique, spécialement chez l'adolescent et l'adulte jeune. On l'a également associée à des affections coronariennes. Le diagnostic s'effectue par sérologie, culture, ou détection du génome viral par PCR.

Chlamydia Infections					
Organisme	Principales infections	Autres infections	Prévention vaccinale	Durée d'incubation	Durée d'infectivité
Chlamydia psittaci	psittacose	infections de la femme enceinte (souches ovines)	–	4 à 15 jours	transmission interhumaine rare
C. trachomatis A-C	trachome	–	–	5 à 12 jours	plusieurs années en l'abs. de Tt
C. trachomatis D-K	MST : uréthrite, salpingite, pneumopathie et ophtalmite néonatales	–	–	7 à 14 jours	?
C. trachomatis L1-L3	lymphogranulomatose vénérienne	–	–	3 à 30 jours	? années
C. pneumoniae (TWAR)	pneumopathie atypique	otite moyenne aiguë	–	>10 jours	? mois

312a ***Chiamydia.*** Infections.

Chlamydia Sources et modes de transmission									
	Réservoir			Transmission					
Organisme	Homme	Animal	Env.	Insecte	Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale	Commentaire
Chlamydia psittaci	–	+	–	–	+	+	–	–	
C. trachomatis A-C	+	–	–	+	–	+	+	–	
C. trachomatis D-K	+	–	–	–	–	–	+	–	
C. trachomatis L	+	–	–	–	–	–	+	–	
C. pneumoniae	+	–	–	–	–	+	+	–	

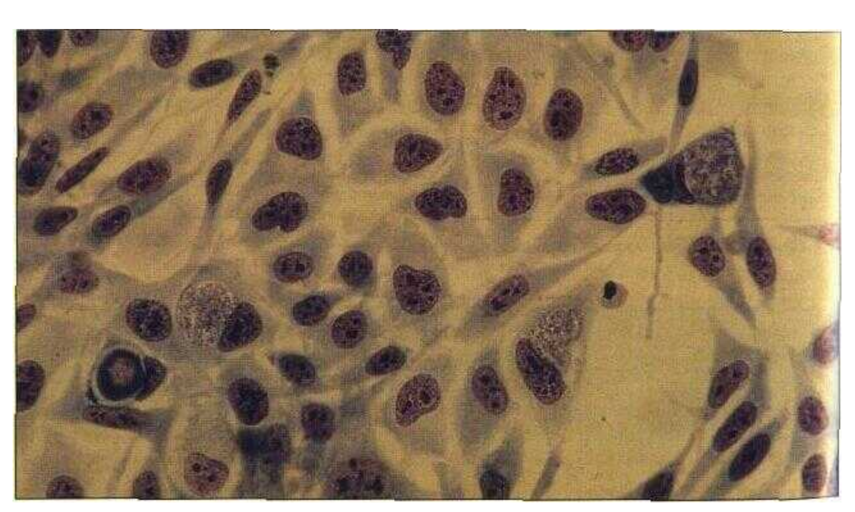
312b ***Chiamydia.*** Sources et modes de transmission.

Chlamydia Caractères d'identification			
Organisme	Culture	Détection d'antigènes	Sérologie
Chlamydia psittaci	œuf embryonné (poule)	IF/ELISA	Inhibition de fixation du complément
C. trachomatis	cellules (McCoy)	IF/ELISA	Micro-immunofluorescence (MIF)
C. pneumoniae	idem, mais culture difficile	IF/PCR	MIF

313 ***Chiamydia.*** Caractères d'identification.



314 ***Chiamydia frachomatis,* inclusions.** Microphotographie électronique d'une coupe mince d'une cellule McCoy contenant une grande inclusion de C. *Irachomatis.* Les formes petites et denses aux électrons sont les corps élémentaires (e), et les plus grandes sont les corps réticulés (r).



315 Culture de *Chiamydia trachomatis* sur cellules McCoy. Les cellules colorées au Giemsa contiennent de grandes inclusions chiamydiennes, masquant en partie le noyau. fGiemsa, ×1000)



316 ***Chiamydia trachomatis* en immunofluorescence.** Immunofluorescence directe sur un frottis cervical montrant les corps élémentaires vert pomme fluorescent de C. *trachomatis.* *(Microscopie à fluorescence, ×1000)*

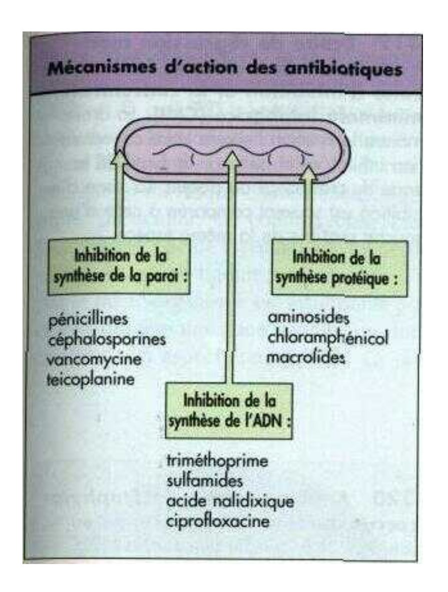
ANTIBIOTIQUES ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

ABREVIATIONS UTILISEES POUR LES DIFFERENTS ANTIBIOTIQUES

AMC	coamoxyclav
MTZ	métronidazole
AML	amoxicilline
NA	acide nalidixique
C	chloramphénicol
OX	oxacilline
CAZ	ceftazidime
P	pénicilline
CE	céfaclor
R	rifampicine
CIP	ciprofloxacine
R	sulfaméthoxazole
CN	gentamicine
T	tétracycline
CTX	céfotaxime
VA	vancomycine
F	nitrofurantoïne
W	triméthoprime -
MET	méticilline

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées en clinique et l'étude de l'efficacité des traitements sont deux des tâches essentielles du laboratoire de microbiologie. Les mécanismes d'inhibition de la croissance bactérienne par les principales familles d'antibiotiques sont recensés dans la figure **317.** Les bactéries peuvent être intrinsèquement résistantes à certains antibiotiques, ou peuvent acquérir la résistance, soit par transfert génétique, soit par mutation. Des exemples de mécanismes de résistance des bactéries figurent dans le schéma **318.**

Au laboratoire, la mesure de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée le plus souvent par diffusion en milieu gélose (méthode des disques). Parfois (en particulier au Royaume-Uni, NdT), les géloses sont ensemencées de telle sorte que l'on puisse comparer sur la même boîte la souche testée à un germe témoin sensible. Des disques chargés d'antibiotique sont placés à l'intersection des deux parties de la gélose, préalablement ensemencée par la souche à tester d'une part et la souche témoin d'autre part. Les boîtes sont incubées 18 heures et l'on compare les zones d'inhibition de la souche à tester et de la souche témoin. Souvent, la résistance d'une souche entraîne une croissance adjacente au disque ou à moins de 2 mm de sa bordure. La figure **319** montre la relation entre la taille



317 **Mécanismes antibactériens des antibiotiques.**

Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Voie métabolique alternative
triméthoprime
sulfamides

Modification de la cible de l'antibiotique
acide nalidixique
ciprofloxacine

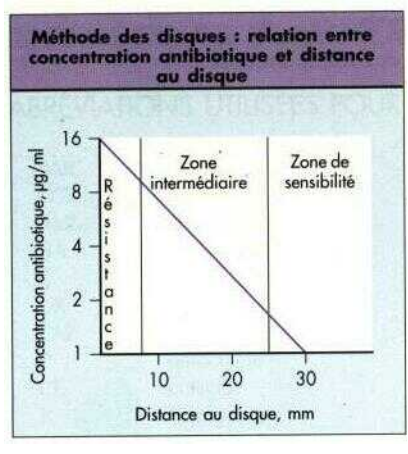
Enzymes modificateurs des antibiotiques
aminosides
chloramphénicol

Enzymes inactivateurs des antibiotiques (ex. β-lactamases)
pénicillines
céphalosporines

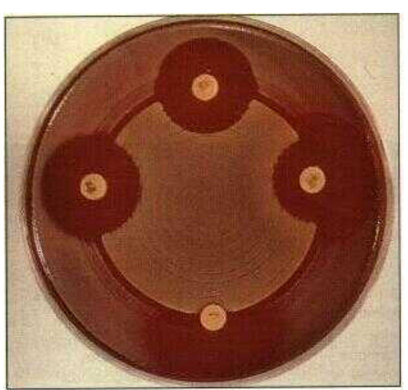
Inhibition de l'accumulation cellulaire des antibiotiques
tétracyclines

Modification du site de fixation au peptidoglycane
vancomycine
teicoplanine

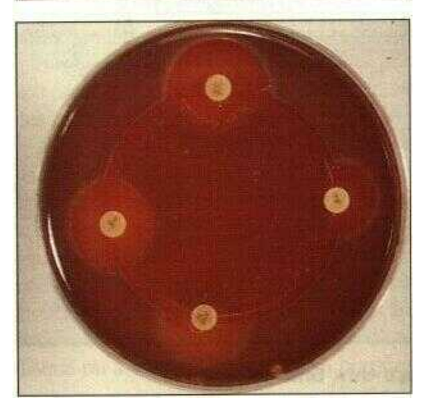
318 **Mécanismes bactériens de résistance aux antibiotiques.**



319 Droite de régression montrant la relation entre la taille de la zone d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice (CMI). La droite montre la relation linéaire entre concentration inhibitrice et distance du bord de la zone de croissance au disque. La zone d'inhibition est souvent comparée à celle d'une souche sensible de la même espèce.

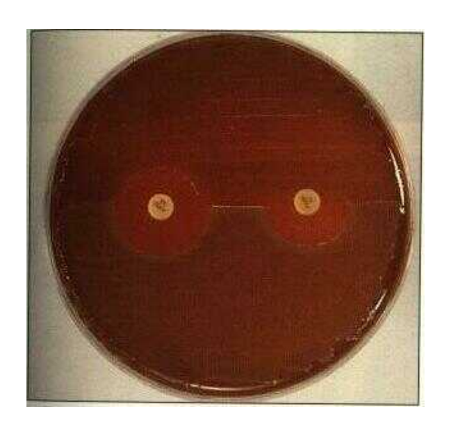


320 Antibiogramme de *Staphylococcus aureus.* L'anneau extérieur es) constitué de la souche de contrôle NCTC 6571 de S. aureus, sensible aux quatre antibiotiques testés. A l'intérieur, une souche résistante à P, mais sensible à F, CE et CN. *(Gélose DST à 5% de sang hémolyse, 18 h à 37 °C)*



321 Antibiogramme de souches sensibles et résistantes de *Escherichia coll.* L'anneau extérieur est ensemencé avec une souche de contrôle de *E. coli* NCTC sensible à AML, W, F et NA et montre des zones d'inhibition autour de chaque disque d'antibiotique. Une souche de E. *coli* d'un échantillon clinique est étalée au centre, et montre une sensibilité à F et NA, et une résistance à AML et W (pas de zone d'inhibition). *(Gélose DST à 5% de sang hémolyse, 18 h à 37 °C)*

de la zone d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice d'antibiotique. Des exemples d'antibiogrammes par la méthode des disques sont donnés, pour *S. aureus* **(320)** et *E. coli* **(321).** La résistance aux pénicillines et aux antibiotiques voisins est souvent due à la production par les bactéries d'enzymes détruisant le cycle p-lactame. La figure **322** montre une souche de *E. coli* productrice de p-lactamase, sans zone d'inhibition autour du disque d'amoxicilline. Sur cet antibiogramme figure également un antibiotique particulier, le coamoxyclav, composé d'amoxicilline et d'un inhibiteur de R-lactamase, l'acide clavulanique; ce dernier restaure la sensibilité de la souche à l'amoxicilline, ce qui se traduit par une zone d'inhibition. Parfois, la production de p-lactamase par le micro-organisme est insuffisante pour inactiver l'antibiotique à proximité du disque, et l'on observe une zone d'inhibition dont la bordure est constituée de grosses colonies, . conférant un aspect épaissi (323). La production de p-lactamase peut être mise en évi-

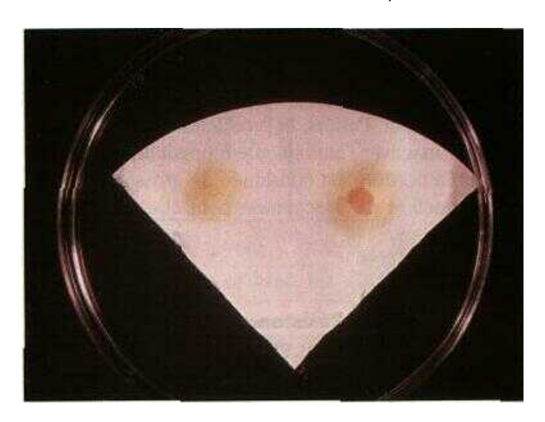


322 Résistance à l'ampicilline par production de p-lactamase chez *Escherichia coli.* La gélose est ensemencée avec une souche de E. co/i résistante à l'ampicilline, mais sensible au coamoxyclav. Ce dernier est constitué d'amoxicilline et d'un inhibiteur de p-lactamase, l'acide clavulanique. *(Gélose DST à S% de sang hémolyse, 18 h à 37 "Cl*

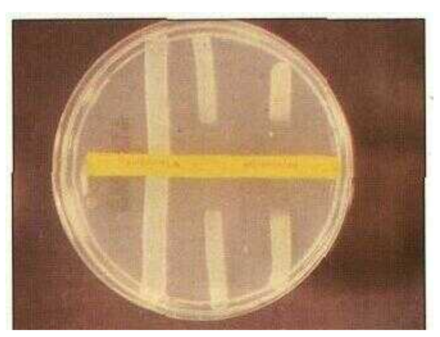


323 Résistance à l'ampicilline par production de P-lactamase chez *Escherichia coll.* La souche de *E. coli de* l'anneau extérieur est totalement sensible. La souche résistante laisse voir une zone d'inhibition autour du disque, plus petite et dont la bordure a . un aspect épaissi. *(Gélose DST à 5% de sang hémolyse, 18 h à 37 "Cl*

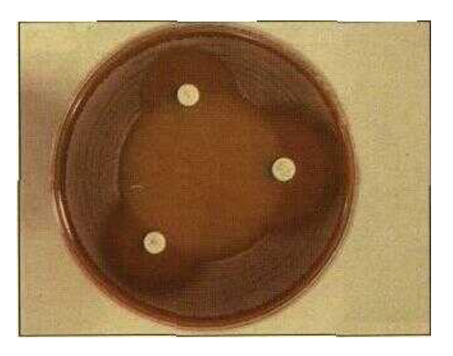
dence par une simple réaction colorée utilisant une céphalosporine chromogène, la nitrocéfine (324). La résistance à la méticilline chez *S. aweus* peut être détectée en plaçant une bande de papier imprégné de l'antibiotique (25 µg) en travers de stries de la souche à tester et de deux souches de contrôle, l'une sensible et l'autre résistante (325).



324 Mise en évidence de la production de p-lactamase par réaction avec une céphalosporine chromogène (nitrocéfine). La nitrocéfine vire du jaune au rouge en présence de (3-lactamase Une souche de *Haemophilus influenzae* résistante à l'ampicilline par production d'une p-lactamase a été déposée sur le papier, et fait apparaître la coloration rouge en 60 secondes.

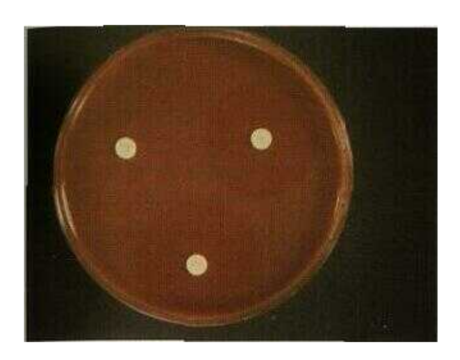


325 *Staphylococcus aweus* résistant à la méticilline. La bande de papier contient 25 ug de méticilline. Les souches sensibles sont inhibées de part et d'autre de la bande, tandis que la souche résistante de S. *aureus* (SARM) pousse à son contact. *(Gélose Columbia, 18 h à 37 "Cl*

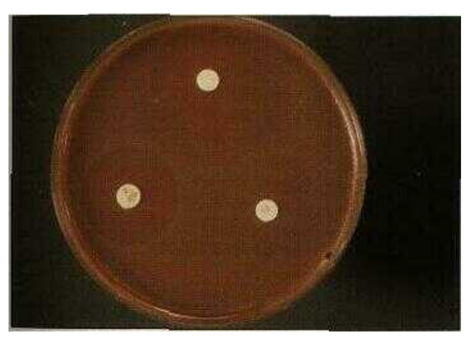


326 *Streptococcus pneumoniae* résistant à la pénicilline. L'anneau extérieur est ensemencé avec une souche de contrôle sensible de S. aureus. La résistance de S *pneumoniae à* la pénicilline est détectée à l'aide du disque chargé de 1 ug d'oxacilline. La souche ensemencée au centre est résistante à la pénicilline et à l'érythromycine. *(Gélose chocolat, 18 h à 37 °Cl*

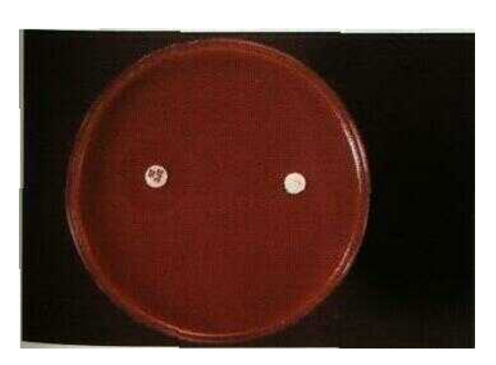
La résistance à la pénicilline est un problème clinique d'importance croissante chez 5. *pneumoniae;* elle est due à des modifications des protéines liant la pénicilline II a été montré que sa détection pouvait être réalisée de façon reproductible *in vitro, a* l'aide d'un disque chargé de 1 u,g d'oxacilline **(326).** Des antibiogrammes par la méthode des disques de *H. influenzae, N. meningitidis* et *N. gonorrhoeae* sont montrés sur les figures **327 à 329.**



327 Résistance à l'ampicilline chez *Haemophilus influenzae.* Antibiogramme montrant une souche de *H. influenzae* résistante à l'ampicilline, mais sensible au chloramphénicol et au céfotaxime. fGélose *chocolat, 18 h à 37 °C)*



328 Sensibilité de *Neisseria meningitidis* aux antibiotiques. Antibiogramme montrant une souche de N. *meningitidis* sensible à la pénicilline et à la rifampicine, mais résistante aux sulfamides. *(Gélose chocolat, 18 h à 37 °C)*

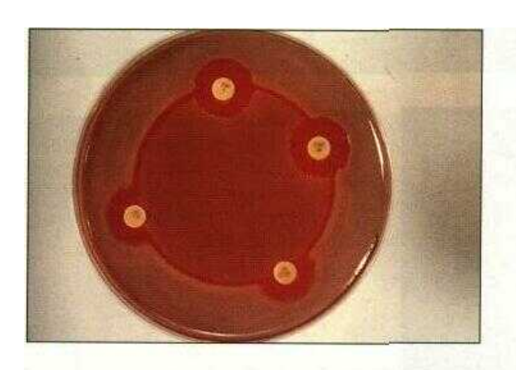


329 Résistance à la pénicilline chez *Neisseria gonorrhoeae.* Antibiogramme montrant une souche de N. *gonorrhoeae* résistante à la pénicilline, mais sensible à la spectinomycine. *(Gélose chocolat, 18 h à 37 °C)*

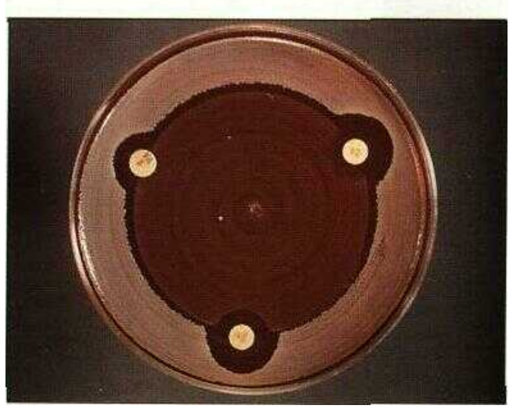
Les souches cliniques de *P. aeruginosa* sont souvent résistantes à de nombreux antibiotiques. La figure **330** montre une souche résistante à la gentamicine et au céfotaxime.

Chez les entérocoques, il a été rapporté des résistances à la vancomycine, à bas niveau (331) et à haut niveau. Pour déterminer la sensibilité de plusieurs souches à un même antibiotique, il est intéressant d'utiliser une boîte de gélose contenant une concentration fixée de cet antibiotique, égale à la concentration critique, et qui ne laisse donc pousser que les souches résistantes (332).

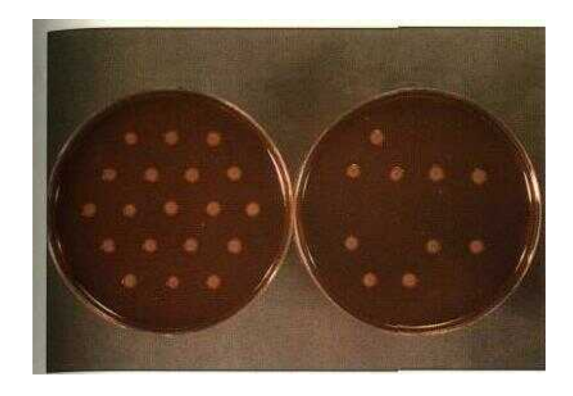
La méthode des disques ne fournit que des informations qualitatives (ou semi-quantitatives, grâce aux courbes de concordance, *NdT)* sur la sensibilité ou la résistance d'une souche II existe des méthodes quantitatives permettant de mesurer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) d'un antibiotique vis-à-vis d'une souche clinique Ces mesures sont utiles dans les cas d'infections sévères telles que les endocardites, ou lorsqu'on utilise des antibiotiques dont le seuil de toxicité est proche de la concentration efficace. Les figures **333** et **334** illustrent la détermination de la CMI par



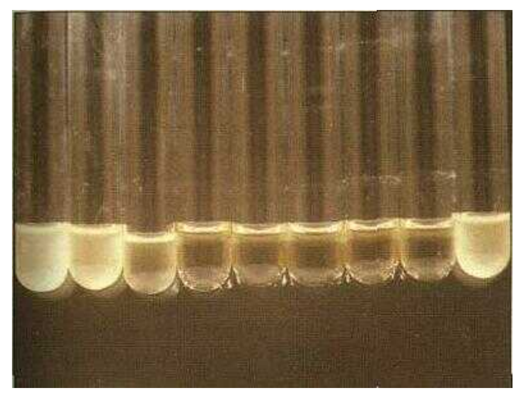
330 Antibiogramme de Pseudomonas *aeruginosa.* L'anneau extérieur est ensemencé avec une souche de contrôle de *P aeruginosa* (NCTC 10662), sensible à CTX, CM, CIP, CAZ. La souche testée est résistante au céfotaxime et à la gentamicine. *(Gélose DST à 5% de sang hémolyse, 18 h à 37 °C)*



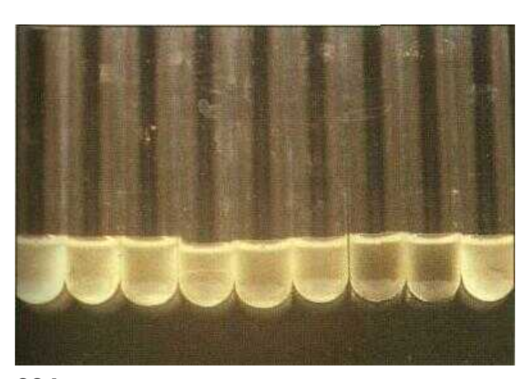
331 Résistance à la vancomycine chez *Enterococcus faecalis.* Quelques souches sont résistantes à bas niveau à la vancomycine. Celle-ci est résistante au disque chargé à 5 ug, mais sensible au disque à 30 ug, et à la teicoplanine. *(Gélose DST à 5% de sang hémolyse, 18 h à 37 °Q*



332 Mesure de la sensibilité de *Escherichia coli* à l'amoxicilline par rapport à deux concentrations critiques. Les souches sont ensemencées, à l'aide un inoculateur à tiges multiples, sur des milieux contenant deux concentrations différentes d'amoxicilline Après une nuit d'incubation, on note la présence ou l'absence de croissance. *(Gélose DST à 5% de sang hémolyse Concentration d'amoxicilline dans les boîtes : à gauche, 1 ug/ml, à droite, 8 ug/ml)*



333

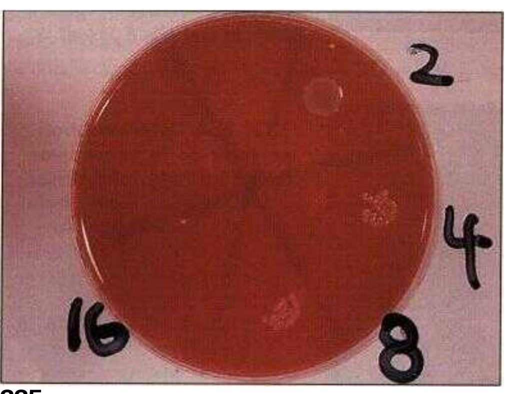


334

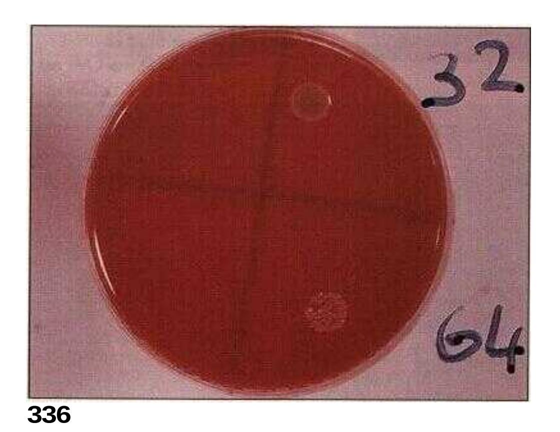
333, 334 Détermination en tube de la concentration minimale inhibitrice d'amoxicilline pour deux souches de *Escherichia coll.* On prépore une série de dilutions d'amoxicilline (concentrations finales • 0,5 à 64 ug/ml). 1 ml du germe à étudier est ajouté dans chaque tube. Après une nuit d'incubation, on observe les tubes présentant un trouble visible La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique inhibant la croissance. En haut (333), la CMI est égale à 2 ug/ml. En bas (334), elle est égale à 32 ug/ml *[Concentration d'amoxicilline dans les boîtes (µg/ml), de gauche à droite, 0,5, 1, 2; 4; 8; 16; 32; 64, et O (contrôle)]*

la méthode de dilution en milieu liquide, et les figures 335 et 336 la détermination de la CMB. En pratique clinique, la connaissance d'éventuels synergie ou antagonisme entre antibiotiques est importante. La figure **337** montre la synergie entre le triméthoprime et un sulfamide, deux agents agissant à des niveaux différents de la synthèse des acides nucléiques bactériens. Un antagonisme entre l'acide nalidixique et la mtrofurantoïne apparaît sur la figure **338.**

Un antagonisme peut survenir par induction d'une p-lactamase de classe 1 (céphalosporinase inductible, *NdT),* une p-lactamine réduisant l'activité d'une autre molécule de la même famille (339)

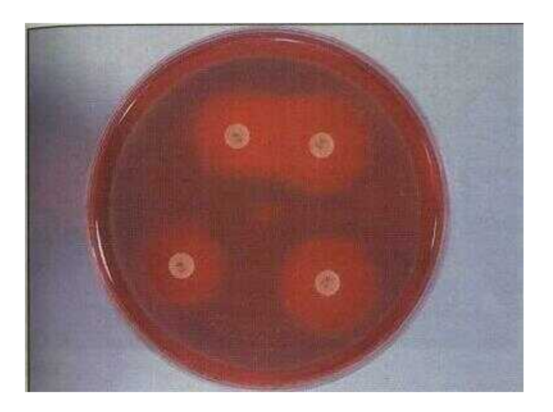


335

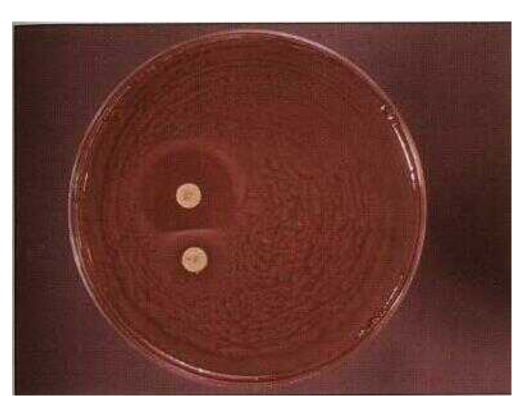


336

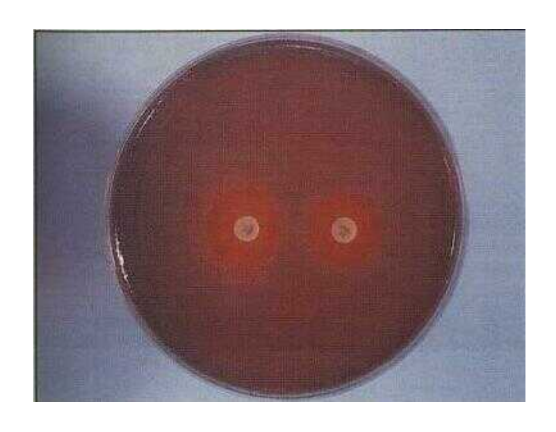
335, 336 Concentration minimale bactéricide (CMB) d'amoxicilline pour deux souches de E. *coll.* On prélève 20 pi de chacun des tubes limpides de la manipulation précédente, qui sont déposés sur un quadrant de gélose au sang et incubés 18 heures La CMB est la plus faible concentration d'antibiotique ne donnant aucune croissance sur la boîte. Pour la souche dont la CMI était égale à 2 ug/ml, la CMB est égale à 16 pg/ml (335). Pour celle dont la CMI était égale à • 32 ug/ml, la CMB est supérieure à 64 pg/ml (336). *(Gélose au sang, 18 h à 37 °Q*



337 Mise en évidence d'une synergie antibiotique. On voit ici la synergie d'action entre le triméthoprime et le sulfaméthoxazole. La taille de la zone d'inhibition entre les disques est plus importante quand les deux antibiotiques sont présents. (*Escherichia* coli, gélose *DST à 5% de sang hémolyse, 18 h à 37 °Q*



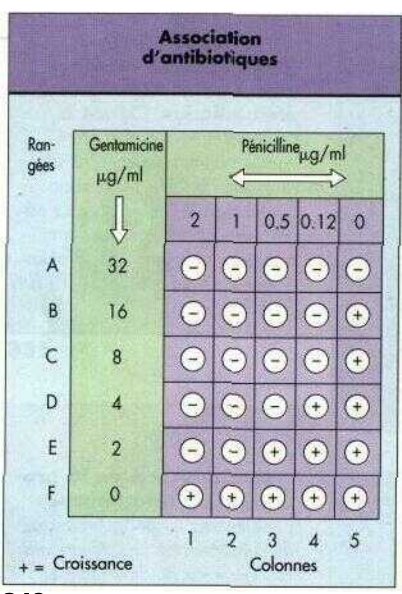
338 Mise en évidence d'un antagonisme entre antibiotiques. On voit ici l'antagonisme d'action entre l'acide nalidixique et la nitrofurantoïne. La taille de la zone d'inhibition entre les disques est diminuée quand les deux antibiotiques sont présents. (*Proteus* vulgaris sur gélose *CLED, 18 h à 37 "CI*



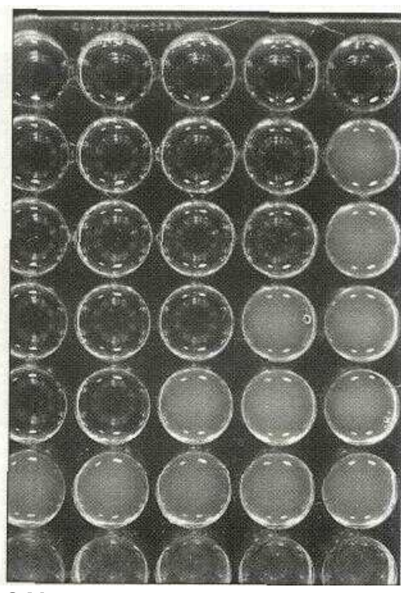
339 Induction de la production de β-lactamase. L'imipénème induit la production de P-lactamase chez *Pseudomonos aeruginosa,* diminuant la zone d'inhibition autour de la pipéracilline. *(Gélose DST à 5% de sang hémolyse, 18 h à* **37** *°C]*

Les synergies sont recherchées en pratique clinique (les association d'antibiotiques servent surtout à limiter le risque d'émergence de bactéries résistantes, à élargir le spectre, ou encore à augmenter la vitesse de bactéricidie, *NdT).* Les figures **340** et **341** démontrent les effets synergiques de l'association pénicilline-gentamicine.

Dans certaines infections graves, il est utile de déterminer l'activité bactéricide du sérum du patient vis-à-vis du germe isolé. Des échantillons sériques sont prélevés (en cours de traitement, *NdT)* avant une administration d'antibiotique (taux résiduel), et en général une heure après (taux au pic). On mesure la plus grande dilution de chacun des sérums exerçant une activité bactéricide sur le germe **(342 à 344).** Une dilution au 1/8 du sérum au pic est considérée comme adéquate, bien que certaines études aient suggéré qu'une dilution au 1/32 soit nécessaire à la guérison.

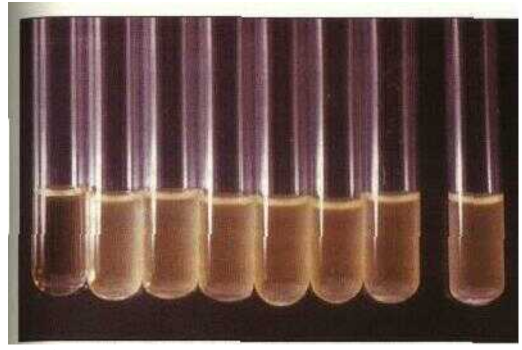


340

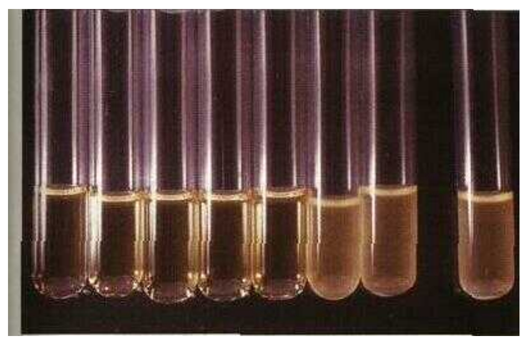


341

340, 341 Association d'antibiotiques. Chaque puits contient l'association de pénicilline et de gentamicine, à différentes concentrations, indiquées dans la figure 340. La rangée F montre une croissance à toutes les concentrations de pénicilline, en l'absence de gentamicine. La colonne 5 montre une croissance à toutes les concentrations de gentamicine sauf 32 ug/ml, en l'absence de pénicilline. Les antibiotiques agissent en synergie, la croissance étant inhibée par 2 ug/ml de gentamicine, en présence de 1 ug/ml de pénicilline (341).

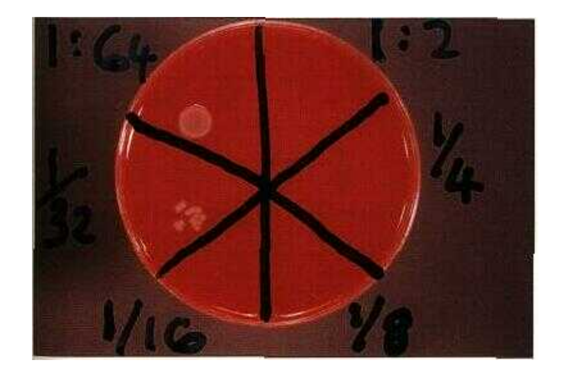


342

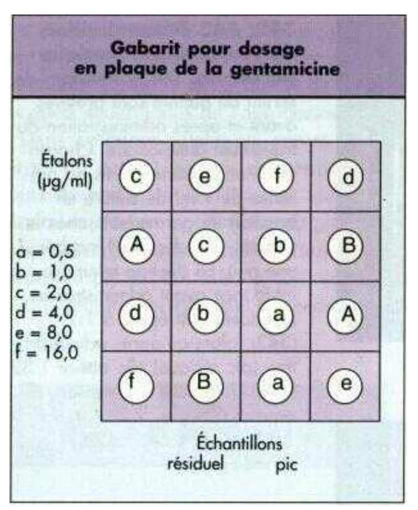


343

342, 343 Détermination de l'activité antibiotique du sérum. Des échantillons de sérum de patient sont prélevés avant et après administration du traitement antibiotique. Chacun est dilué en série et mis en présence de 1 ml de culture en bouillon du germe isolé chez le patient. Les tubes sont incubés une nuit. La dilution minimale inhibitrice avant administration (résiduelle) est égale à 1:2 **(342),** alors qu'après administration (pic sérique) elle atteint 1**:32** **(343).** *(Dilutions en bouillon,* ***de*** *gauche à droite, 1:2, 1:4,* ***1:8,*** *1:16, 1:32, 1:64, 1:128, contrôle)*

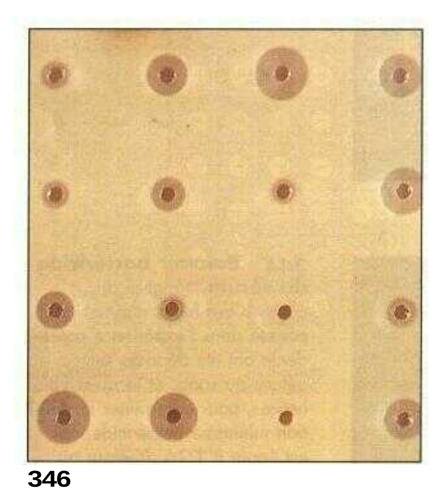


344 Pouvoir bactéricide du sérum. Vingt ul du contenu des tubes n'ayant pas poussé dans l'expérience précédente ont été déposés sur gélose au sang, et incubés 18 heures, pour déterminer la dilution minimale bactéricide, qui est égale à 1:16. *{Gélose au sang, 18 h à 37"Cj*

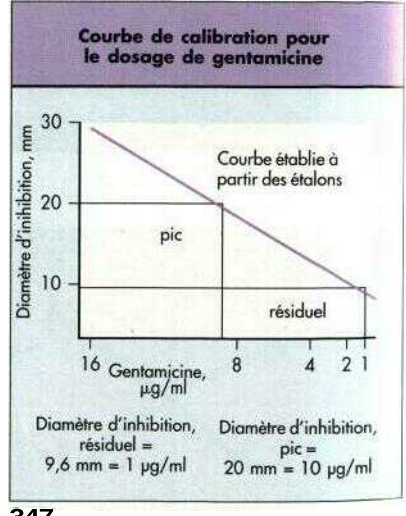


345

345, 346, 347 Mesure des concentrations sanguines de gentamicine. Une boîte de gélose isosensitest est ensemencée avec une dilution au 1:50 d'une culture de 18 heures de *Klebsiella pneumoniae.* Des puits sont découpés et remplis de solutions calibrées de gentamicine ou bien de sérum (selon la disposition indiquée figure 345). Après incubation d'une nuit (346), on mesure les zones d'inhibition et l'on établit une courbe de calibration (347). La concentration de gentamicine des échantillons est extrapolée à partir de ce graphe La concentration de l'échantillon A est de 1 ug/ml, celle de l'échantillon B est de 10 ug/ml.



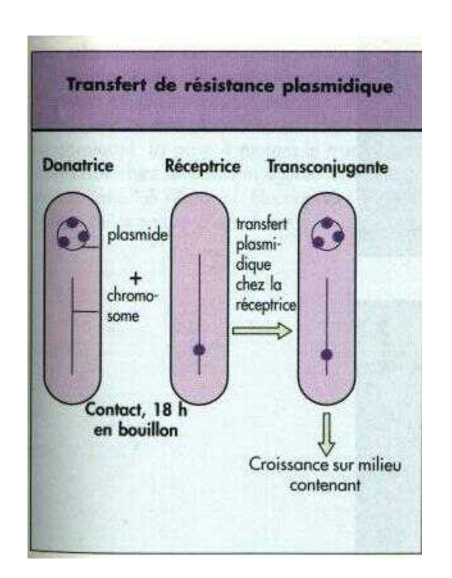
346



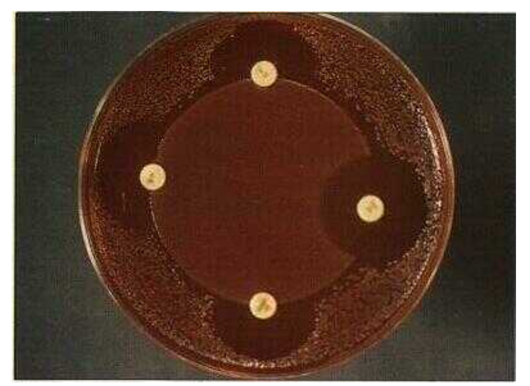
347

Jn examen complémentaire important consiste à déterminer les taux sériques d'antibio- *f* tique, pour estimer l'activité *in vivo* et éviter les concentrations toxiques. Les figures **345** à 347 montrent un dosage microbiologique dans le sérum de gentamicine (taux résiduel et taux au pic).

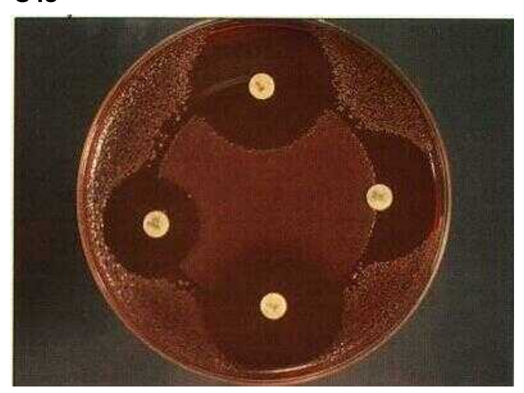
Les autres figures de ce chapitre décrivent le transfert de déterminants de résistance. La figure **348** montre le principe du transfert plasmidique de gènes de résistance Au laboratoire, des cultures d'une bactérie donatrice (multi-)résistante et d'une réceptrice convenable possédant un marqueur de résistance chromosomique, sont incubées en présence l'une de l'autre, puis étalées sur un milieu contenant à la fois l'antibiotique marqueur de la réceptrice et l'un des antibiotiques auxquels la donatrice était résistante. Seuls les transconjugants (bactéries réceptrices contenant maintenant les gènes plasmidiques de résistance de la donatrice) vont pousser sur le milieu sélectif. Les figures **349 à 351** illustrent le transfert de résistance chez £. *coll.* Le gel présenté sur la figure **352** montre les profils plasmidiques de donatrices et de réceptrices, mettant en évidence les transferts de plasmides.



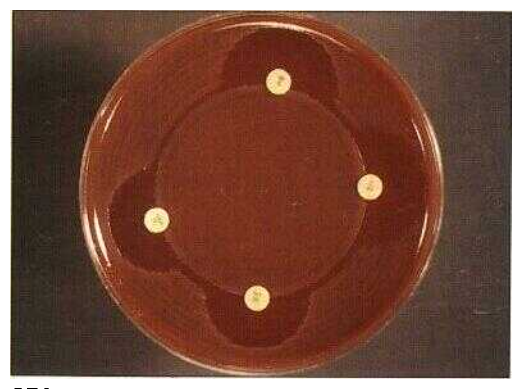
348 Transfert de gènes plasmidiques de résistance aux antibiotiques. La souche donatrice est résistante à l'ampicilline, à la tétracycline et au chloramphénicol, mais sensible à l'acide nalidixique. La réceptrice est une souche de F. co/i Kl 2 résistante uniquement à l'acide nalidixique. Le transconjugant est résistant aux quatre antibiotiques



349



350



351

349, 350, 351 Transfert de résistance par conjugaison bactérienne. La souche donatrice **(349)** est une souche de *Escherichia* co/i sensible à l'acide nalidixique, mais résistante à l'ampicilline, la tétracycline et au chloramphénicol. La réceptrice est une souche de laboratoire (E. co/i K12, NA[R]), sensible à l'ampicilline, la tétracycline et au chloramphénicol, avec une résistance chromosomique à NA (350). Le transconjugant (351) est **résistant aux** quatre antibiotiques.

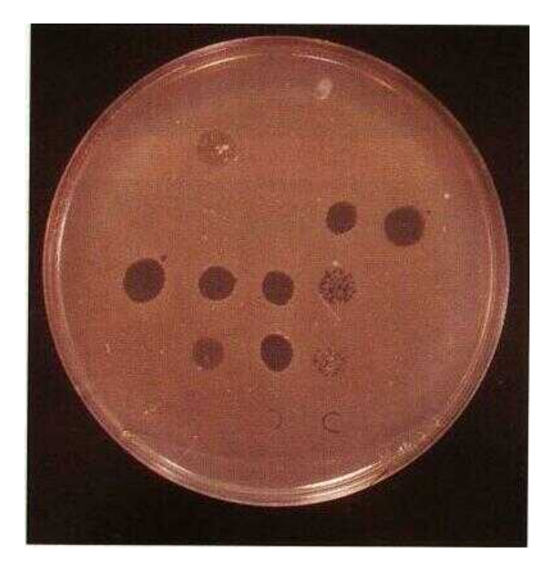


352 Électrophorèse en gel d'agarose montrant le transfert de plasmides de résistance aux antibiotiques. Les pistes 3 à 12 montrent une alternance de donatrices et de transconjugants, avec transfert de plasmide. Par exemple, la piste 3 contient l'ADN de la donatrice, avec quatre plasmides (au dessus de la bande large d'ADN chromosomique). La piste 4 montre le transfert d'un des plasmides de la donatrice chez le transconjugant. *(Extraction d'ADN par lyse en 5DS et précipitation à l'éthanol. Électrophorèse en gel à 0,7 % d'agarose. Coloration au bromure d'éthidium)*

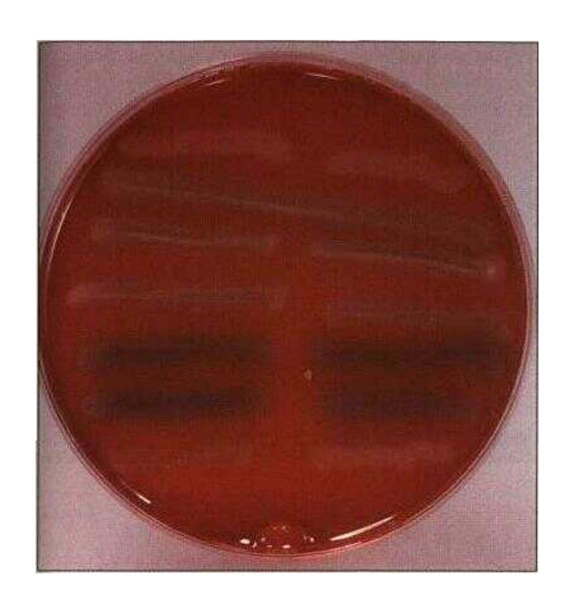
TECHNIQUES D'EPIDEMIOLOGIE

Au cours de l'investigation d'infections hospitalières croisées, le typage des pathogènes au-delà du niveau de l'espèce est souvent nécessaire pour identifier d'éventuelles souches épidémiques. Des exemples de technique spécifique de typage sont présentés dans ce chapitre, mais des méthodes plus générales (caractères biochimiques, phénotype de résistance aux antibiotiques, sérotype) peuvent aussi être utilisées. Ces dernières sont illustrées dans les chapitres précédents.

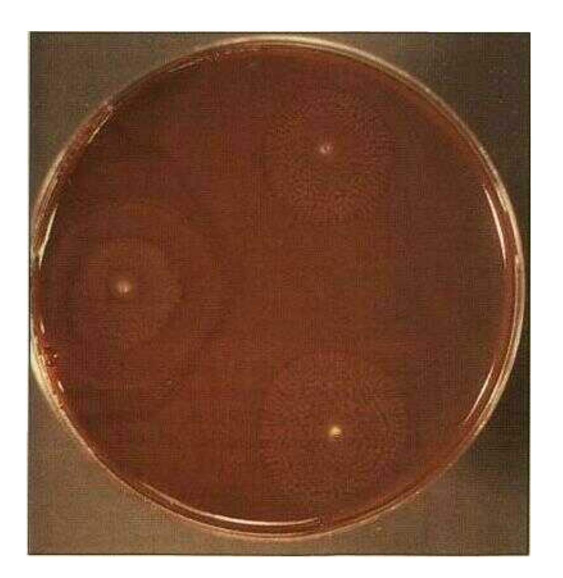
La figure **353** est un exemple de lysotypage de 5. *aureus*. Le lysotype de la souche est indiqué par la référence des phages qui produisent des plages de lyse sur la gélose. La figure **354** illustre une technique de pyocinotypie (mise en évidence de la production de bactériocine) chez *Pseudomonas aeruginosa* Des méthodes analogues ont également été appliquées au typage des shigelles et d'autres entérobacténes. Elles nécessitent de la main d'œuvre et sont rarement utilisées depuis que des techniques moléculaires plus spécifiques et reproductibles sont disponibles. La figure **355** montre le typage de souches nappantes de *Proteus* par la technique de Dienes. Des souches qui diffèrent produisent une démarcation là où les nappes se rencontrent.



353 Typage phagique de *Staphylococcus aureus* (lysotypie). Une culture en bouillon de S. aureus est ensemencée sur une gélose nutritive, et différents phages sont déposés selon un plan prédéfini. Après incubation, le profil de lyse indique le lysotype de la souche *(Gélose nutritive, 18 h à 37 "Ci*



354 Pyocinotypage de *Pseudomonas aeruginosa.* La souche à étudier est inoculée en stries de haut en bas au centre de la boîte La pousse est éliminée par raclage des colonies, et la boîte est exposée à des vapeurs de chloroforme pour tuer les bactéries restantes Des souches indicatrices sont alors ensemencées en stries transversales sur la boîte, qui est à nouveau incubée Le profil d'inhibition des souches indicatrices indique le pyocinolype de la souche étudiée. *(Gélose au sang, 18 h à 37 °C)*



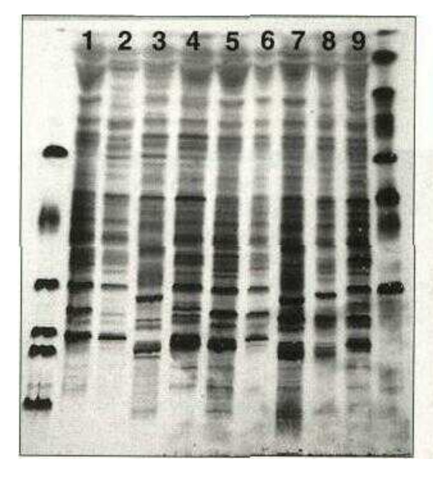
355 Typage de souches de *Proteus par* la technique de Dienes. Trois souches sont déposées à équidistance à la périphérie de la gélose, qui est incubée une nuit. Les deux souches identiques forment deux nappes confluantes, sans séparation. La troisième souche, différente, fait apparaître une ligne de démarcation *(Gélose* au sang, *18 h à 37 °Q*

Les méthodes moléculaires dont l'utilisation va croissant comprennent l'analyse des profils des protéines cellulaires totales ou de membrane externe, des profils plasmidiques et des profils de restriction de l'ADN génomique après digestion par des endonucléases.

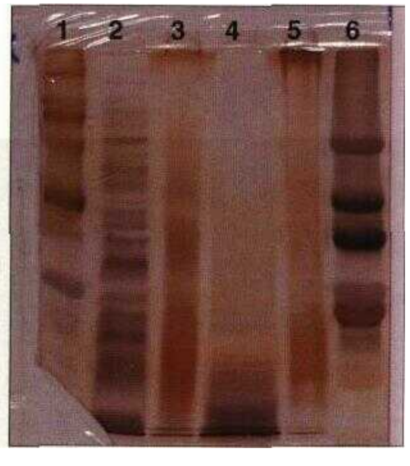
La figure **356** montre des profils électrophorétiques de protéines cellulaires totales lors de l'étude de souches de *B. cepacia chez* des patients atteints de mucoviscidose. Il existe d'autres techniques moléculaires ne reposant pas sur l'étude de l'ADN, comme l'analyse des protéines de membrane externe et le typage du lipopolysaccharide (357).

Les techniques rapides d'extraction de l'ADN à petite échelle ont conduit à la mise au point de plusieurs techniques reproductibles, aux nombreuses applications, qui permettent de différencier les souches. La figure **358** montre les profils plasmidiques de souches de 5. *sonnei* isolées de différents foyers d'infection, et comment on peut les différencier.

La dissémination de bactéries à Gram négatif multirésistantes est un problème croissant d'infectiologie hospitalière. Les produits de restriction des plasmides de bactéries présentant le même phénotype de résistance peuvent permettre d'identifier les souches épidémiques (359). Les endonucléases de restriction sont également utilisées pour produire



356 Typage de B. *cepacia* par électrophorèse des protéines cellulaires totales. Après lyse des bactéries, les protéines totales sont séparées par électrophorèse en gel de polyacrylamide et colorées au bleu de coomassie. Les pistes extérieures contiennent des marqueurs de poids moléculaire. Les profils protéiqués des souches des pistes 1 à 5 et de la piste 9 présentent des similitudes.



357 Typage de *Legionella* par électrophorèse des protéines cellulaires totales (WCP), des protéines de membrane externe (OMP) et du lipopolysaccharide (LPS). Les pistes 1 et 6 contiennent des marqueurs de poids moléculaire. La piste 2 montre le profil de WCP, la 3 le profil d'OMP, et la 4 le profil du LPS. *(Électrophorèse en gel de polyacrylamide, coloration argentique)*



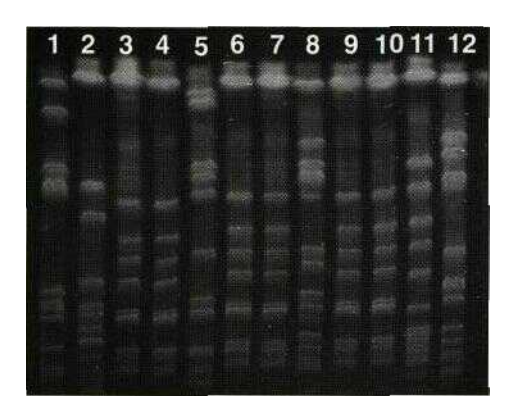
358 Typage plasmidique de *Shigella* sonnei. La piste 12 contient des marqueurs de poids moléculaire. Les autres pistes montrent des groupes de profils identiques (ex. pistes 1 à 3, pistes 5 et 7, pistes 9 et 10), et des profils distincts les uns des autres. *(Extraction d'ADN par lyse en SDS et précipitation à l'éthanol. Electrophorèse en gel à 0,7% d'agarose. Coloration au bromure d'étbidium.j*



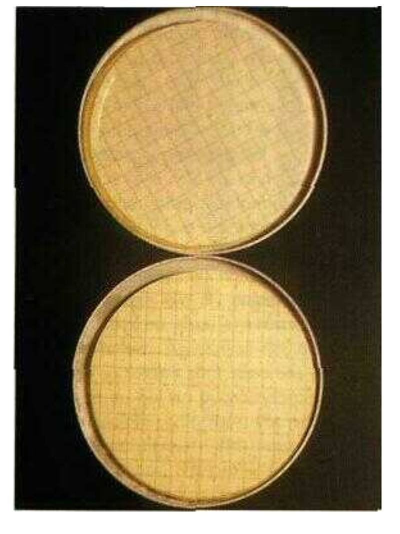
359 Caractérisation de plasmides de résistance chez *Cscherichia col!* par digestion avec des endonucléases de restriction. Le gel montre les produits de digestion par l'enzyme *Psi* 1, de plasmides ayant tous un poids moléculaire de 62 MD. Les profils de restriction des plasmides des pistes 1, 2, 3, 4 et 7 sont identiques. Ceux des pistes 9 et 10 sont similaires l'un à l'autre, mais différents de tous les autres. *(Extraction d'ADN par lyse en SDS et précipitation à l'éfhanol. Digestion enzymatique pendant 2 h à 37 °C. Elecfrophorèse en gel à 0,7% d'agarose. Coloration au bromure d'éthidium.j*

des profils d'ADN chromosomique. En raison du grand nombre de fragments obtenus (et surtout de leur grande taille, *NdT),* on utilise l'électrophorèse en champ puisé, avec un champ électrique variant en durée et en voltage au cours du temps. Cette méthode est très discriminante **(360).**

Les enquêtes réalisées au décours d'épidémies nécessitent également des analyses microbiologiques de l'environnement. Le contrôle de la qualité des eaux est un exemple de ce type d'investigation (361). Les bactéries conformes qui poussent à 44 °C sont de bons indicateurs de contamination fécale.



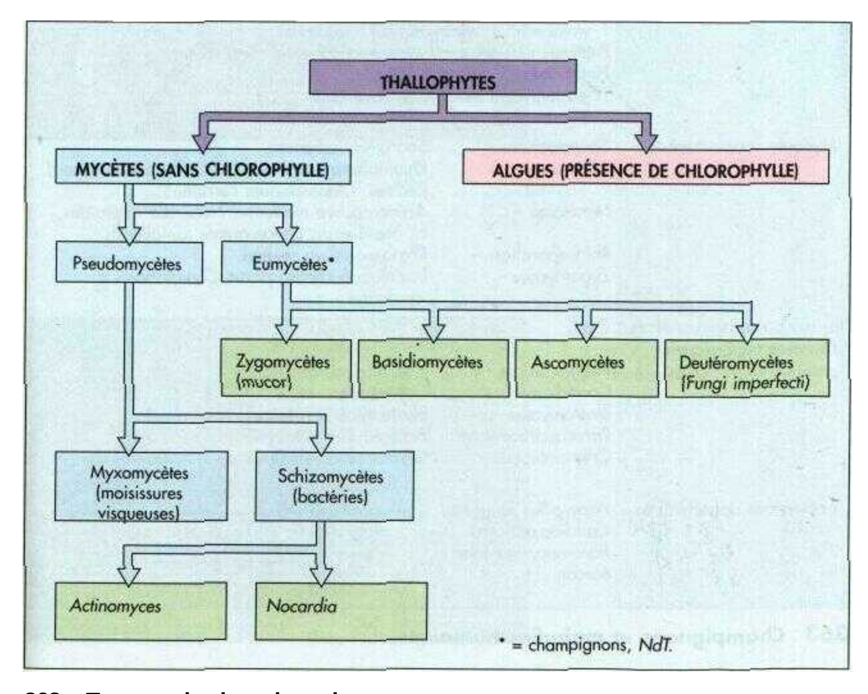
360 Électrophorèse en champ puisé (PFGE) de l'ADN chromosomique de plusieurs souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM). L'ADN des différentes souches a été digéré par l'endonucléase de restriction Smal, et les fragments obtenus ont été séparés par électrophorèse en champ puisé. Les souches des pistes 3, 4, 6, 7, 9 et 10 montraient des profils identiques et ont été identifiées comme un clone épidémique. *(Extraction d'ADN par lyse cellulaire et traitement par la protéinase K, digestion enzymafique pendant 2 h à 37 °C, électrophorèse en gel à 1 % d'agarose, champ électrique 6 Y/cm, angle 120°, pulsations variant de 5,3* s a *34,9 s)*



361 Contrôle microbiologique de la qualité de l'eau, par filtration sur membrane. Des échantillons de 100 ml d'eau sont filtrés sur des membranes de porosité 0,45 prn, qui sont ensuite trempées dans un milieu contenant du laurylsulfate et incubées à 44 °C pendant 16 h. Les coliformes fécaux forment des colonies jaunes et l'on détermine leur nombre pour 100 ml. En haut, une numération faible; en bas, une numération élevée, suggérant une contamination fécale importante.

5. Champignons d'intérêt médical

Les champignons ou mycètes constituent un règne très important, dont seul un petit nombre de représentants sont pathogènes pour l'homme. Ce sont des eucaryotes, possédant un noyau et une paroi cellulaire composée de chitine. Un aperçu des principaux groupes de champignons pathogènes figure dans le schéma **362.** Les champignons peuvent se présenter sous forme unicellulaire (levure) ou pluricellulaire, lorsque les cellules s'allongent pour former des filaments ou hyphes (qui constituent le mycélium, *NdT).* Les quatre principaux embranchements des champignons vrais (eumycètes) se distinguent par leur mode de reproduction. Les zygomycètes peuvent avoir une reproduction sexuée, les zygotes se formant par fusion des extrémités des filaments (gamétanges, *NdT).* On trouve parmi eux les genres pathogènes *Mucor* et *Absidia.* Les basidiomycètes possèdent des spores sexuées externes produites par des cellules en forme de massue appelées basides (Oyptococcus *neoformans* est la forme levure d'un champignon basidiomycète, *NdT).* Les ascomycètes forment des



362 Taxonomie des champignons.

spores sexuées à l'intérieur d'un asque; *Piedraia hortae* est un pathogène appartenant à cet embranchement. Les principaux pathogènes humains appartiennent à l'embranchement des deutéromycètes, aussi appelés champignons imparfaits *(Fungi imperfecti)*, car on n'a pas pu mettre en évidence chez eux de reproduction sexuée. En revanche, ils forment des spores ou conidies. Les *Fungi imperfecti* comprennent les genres *Epiderinophyton, Candida* et *Pityrosporum.* Cependant, on utilise une classification plus pratique basée sur **l'association à des** maladies : mycoses superficielles, sous-cutanées ou systémiques (363).

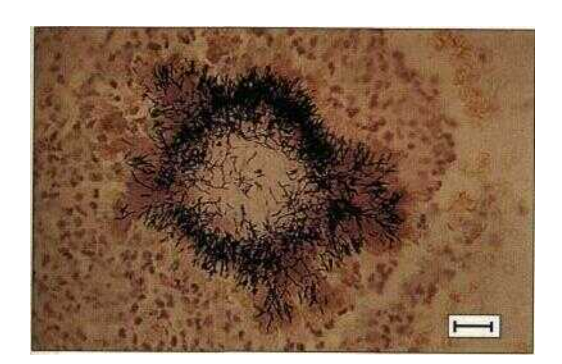
Bien que les genres *Actinomyces* et *Nocardia* soient formés de bactéries ramifiées, ils ont été placés ici par commodité.

Maladies humaines dues aux champignons		
Mycoses superficielles	Dermatophyties (teignes, eczéma marginé, herpès circiné, intertrigo, onychomycoses). *Epidermophyton floccosum.* *Microsporum audouinii (M. gypseum, M. canis).* *Trichophyton rubrum (T. terrestre, T. mentagrophytes, T. verrucosum, T. violaceum, T. schoenleinii, T. tonsurans).* Pityriasis versicolor – *Malassezia (Pityrosporum) furfur.* Piedra noire – *Piedraia hortae.* Tinea nigra – *Cladosporium werneckii.*	
Mycoses sous-cutanées	Sporotrichose –	*Sporothrix schenckii.*
	Chromomycose –	*Phialophora verrucosa, Phialophora (Fonsecaea) pedrosi. Cladosporium carrionii.*
	Mycétome –	*Actinomadura madurae, Nocardia asteroides, N. brasiliensis, Streptomyces somaliensis.*
	Rhinosporidiose –	*Rhinosporidium seeberi.*
	Zygomycose –	*Basidiobolus haptosporus, Conidiobolus coronatus.*
Mycoses systémiques		
pathogènes primaires	Histoplasmose –	*Histoplasma capsulatum*
	Coccidiomycose –	*Coccidiodes immitis*
	Blastomycose –	*Blastomyces dermatitidis*
	Paracoccidiomycose –	*Paracoccidioides brasiliensis*
	Cryptococcose –	*Cryptococcus neoformans*
pathogènes opportunistes	*Aspergillus fumigatus* *Candida albicans* *Pneumocystis carinii* *Mucor*	

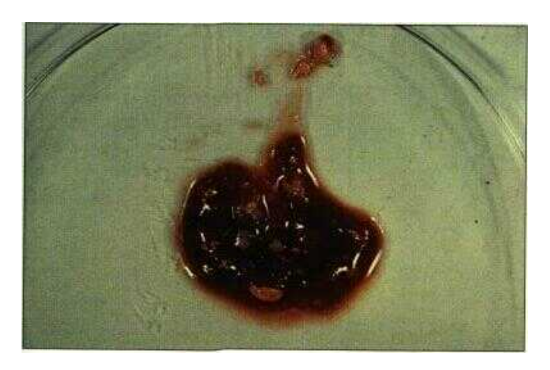
363 Champignons et maladies humaines.

ACTINOMYCETACEAE

Ce sont des bactéries ramifiées (364), qui peuvent faire partie de la flore normale. Le principal agent pathogène est *Actinomyces israelii*, bacille à Gram positif non acido-alcoolo-résistant, anaérobie ou microaérophile. Il est responsable d'abcès maxillaires, pulmonaires et abdominaux, ainsi que d'infections sur stérilet. Le diagnostic repose sur la coloration de Gram de frottis de pus, contenant parfois des grains jaune soufre (365), et



364 *Actinomyces israelii* dans un pus. Coloration de Gram d'un frottis de pus d'actinomycose abdominale. On peut voir les bactéries ramifiées à Gram positif *(Actinomyces israeliij. (barre = 10 µm)*

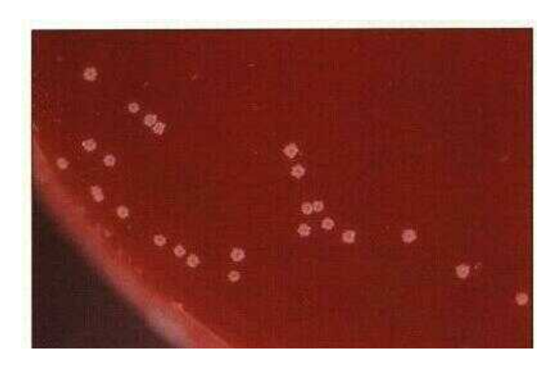


365 Actinomycose. Grains jaunes dans un pus d'actinomycose abdominale.

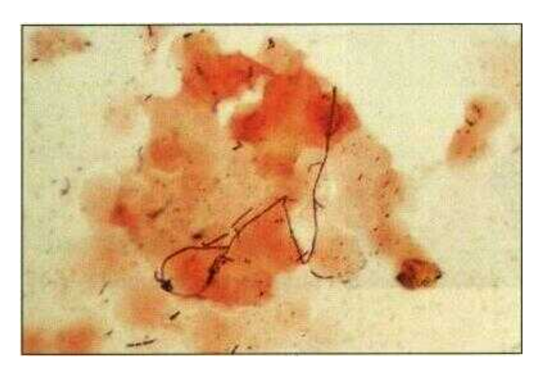
sur la culture en milieu liquide ou solide. Sur milieu solide, les colonies sont gris-blanc avec une surface irrégulière dentelée (366). Le traitement consiste à drainer l'abcès et à administrer de la pénicilline.

NOCARDIACEAE

Ce sont aussi des bactéries filamenteuses et à Gram positif (367), mais qui sont partiellement acido-alcoolo-résistantes, et qui présentent des formes coccoïdes et bacillaires, contrairement à *Actinomyces israelii. Nocardia astéroïdes a* une distribution mondiale et provoque des abcès profonds. *N. brasiliensis* et *N. caviae* sont des agents de mycétomes. Sur gélose au sang, *N. astéroïdes* produit des colonies à la surface irrégulière. Le traitement requiert un drainage chirurgical et une antibiothérapie au long cours par les sulfamides ou le cotrimoxazole.



366 Colonies de *Actinomyces israelii* sur gélose au sang. Quatre jours d'incubation à 37 °C en microaérophilie. Remarquer les colonies irrégulières (aspect dentelé).



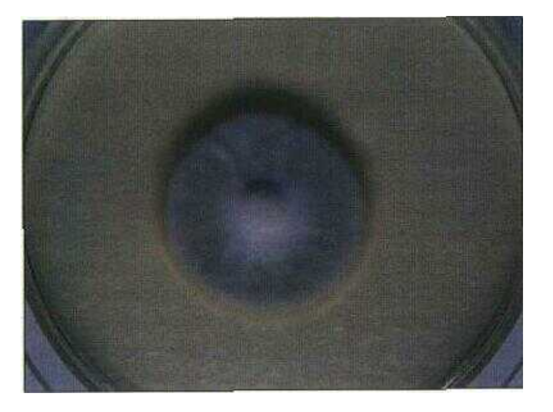
367 *Nocardia astéroïdes* (Gram positif) dans un pus. Coloration de Gram d'un frottis de pus contenant N. *astéroïdes.*

MYCOSES SUPERFICIELLES

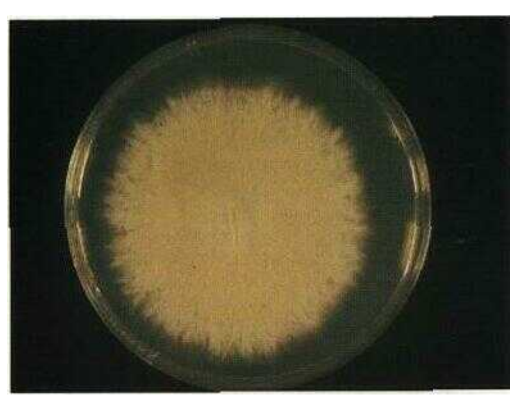
Les dermatophytes (368) sont un groupe de champignons pouvant utiliser la kératine comme nutriment. Dans les tissus, ils sont présents sous forme d'un mycélium cloisonné. Sur les milieux de culture solides (ex. milieu de Sabouraud glucose), ils produisent des colonies duveteuses ou poudreuses **(369 à 371)** et des macro- et microconidies caractéristiques qui permettent de distinguer les espèces. Les caractères biochimiques sont peu utilisés pour l'identification. Le genre *Epidermophyton* possède des macroconidies piriformes à paroi lisse (372), le genre *Microsporum* des macroconidies fusiformes à paroi le plus souvent échinulée (373), et le genre *Trichophyton* des macroconidies cylindriques à paroi lisse. La production de macroconidies par les *Trichophyton* est faible, y compris sur gélose au malt. Une caractéristique diagnostique de *T. mentagrophytes* est la production de filaments en vrille (374). Les principales infections sont les teignes (teignes tondantes,

Les dermatophytes		
Anthropophiles	Zoophiles	Telluriques
Epidermophyton floccosum *Microsporum audouinii* *M. ferrugineum* *M. rivalieri* *Trichophyton concentricum* *T. gourvilii* *T. interdigitale* *T. megninii* *T. rubrum* *T. schoenleinii* *T. soudanense* *T. tonsurans* *T. violaceum* *T. yaoundii*	*Microsporum canis* *M. distortum* *M. equinum* *M. nanum* *M. persicolor* *Trichophyton equinum* *T. erinacei* *T. gallinae* *T. mentagrophytes* *T. quinckeanum* *T. simii* *T. verrucosum*	*Microsporum fulvum* *M. gypseum* *Trichophyton ajelloi* *T. terrestre*

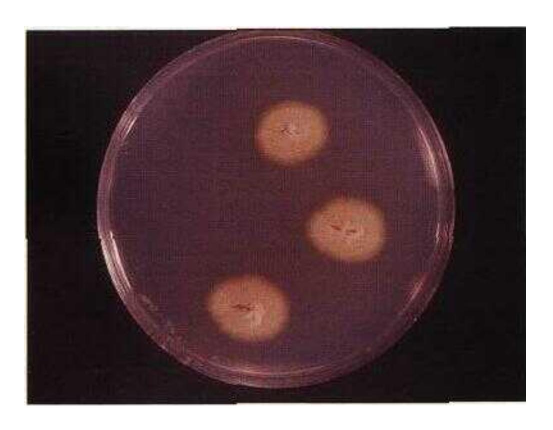
368 Les dermatophytes.



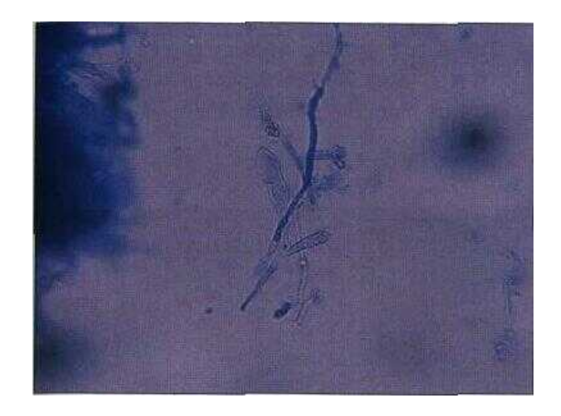
369 Culture de *Trichophyfon rubrum.* Croissance après 10 jours sur milieu de Sabouraud glucose.



370 Culture de *Microsporum gypseum.* Croissance après 10 jours sur milieu de Sabouraud glucose.



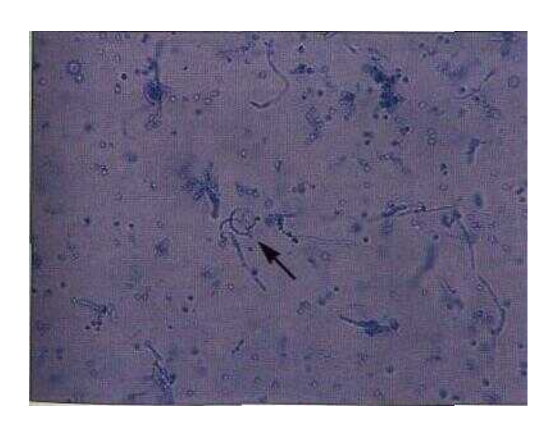
371 Culture de *Epidermophyton floccosum.* Croissance après 10 jours sur milieu de Sabouraud glucose.



372 Culture de *Epidermophyton floccosum.* Préparation colorée par le lactophénol au bleu coton de *E. floccosum* après culture sur milieu de Sabouraud, montrant les macroconidies pyriformes typiques.



373 Culture de *Microsporum canis.* Préparation colorée par le lactophénol au bleu coton de *M. canis* après culture sur milieu de Sabouraud, montrant des macroconidies à paroi échinulée.



374 Culture de *Trichophyfon mentagrophytes.* Préparation colorée par le lactophénol au bleu coton de *T. mentagrophyles* après culture sur milieu de Sabouraud, montrant des filaments en vrille (flèche).

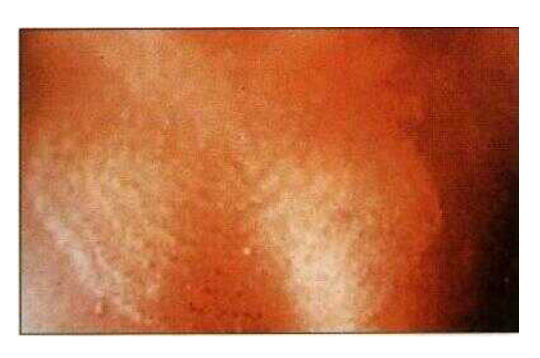
suppuratives, favique), les épidermophyties (herpès circiné, eczéma marginé de Hébra, intertngo interdigitoplantaires), et les onychomycoses **(375, 376).** Le Tokelau ou *Tinea imbricata* est dû à *T. concentricum* et se caractérise par des lésions cutanées concentriques (377). Les dermatophytes peuvent aussi envahir les cheveux et les poils Lorsqu'ils



375 Herpès circiné. Exemple de dermatophytie cutanée.

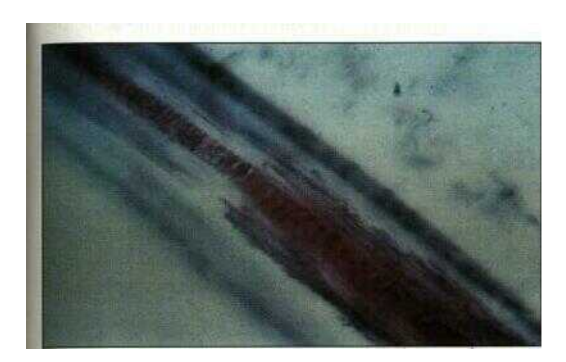


376 Onyxis. Exemple d'onyxis.



377 Tokelau. Exemple de tinea imfcricoto, due à *Trichophy ton* concenfricum.

(sont en surface, on dit qu'ils sont exothrix, et endothrix s'ils envahissent l'intérieur de la gaine (378). Les dermatophytes d'origine animale produisent en général une réaction plus intense, pouvant aller jusqu'à la formation d'un kérion (379). Le diagnostic nécessite de prélever des échantillons de peau, de débris d'ongle ou de cheveu et de les placer dans



378 Atteinte endothrix montrant les filaments fongiques à l'intérieur de la gaine du cheveu.



379 Kérion (réaction inflammatoire à l'infection par un dermatophyte d'origine animale).



380 Préparation de squames éclaircie à la potasse. Les squames ont été obtenues par raclage cutané On peut voir des filaments mycéliens et des arthrospores.

une solution de potasse à 30 % sur une lame de microscope. Celle-ci est examinée à la recherche de filaments mycéliens et d'arthrospores (380) Certaines lésions de dermatophytes (dues, par exemple, à *M audouinn, M canis, T scboenleinii)* sont fluorescentes quand on les expose aux rayons ultraviolets (365 nm, lampe de Wood) Le diagnostic précis s effectue après culture à température ambiante (idéalement 26 à 28 °C) sur gélose de Sabouraud glucosée, en laissant incuber jusqu'à 2 semaines Une petite portion de colonie est alors placée dans une solution de lactophénol au bleu coton sur une lame de microscope, ce qui permet de visualiser les spores (372 à 374) Le traitement, si nécessaire, est la gnséofulvme *per os*

MYCOSES SOUS-CUTANEES

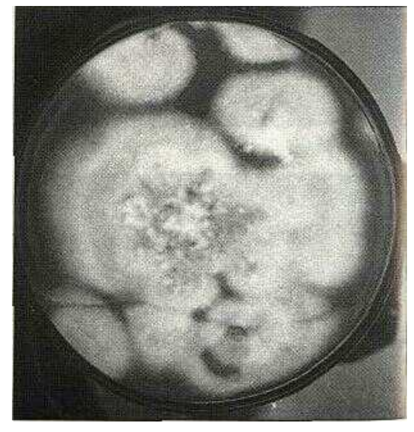
Ces infections sont causées par un grand nombre de champignons (ou par certaines bactéries), mais sont surtout rencontrées dans les régions tropicales et subtropicales. La plupart de ces germes sont présents dans le sol et pénètrent sous l'épiderme à la suite d'un traumatisme

MYCÉTOMES

Ils se présentent sous la forme de lésions localisées délabrantes drainées vers la surface de la peau, le plus souvent au niveau du pied (381) ou des mains. Les actinomycétomes sont dus à des bactéries telles que *Actinomadwa madurae* et *Nocardia astéroïdes* Les



381 Mycétome du pied, dû à *Fusarium.*



382 Culture de Fusanum sur gélose de Sabouraud glucosée.

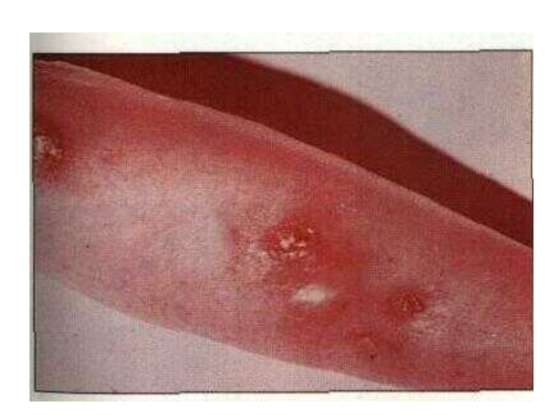
eumycétomes sont causés par des champignons tels que *Madurella mycetomatis,* et des espèces des genres *Acremonium, Aspergillus* et *Fusanum* **(382)** Le diagnostic est microscopique sur liquide de drainage ou prélèvement par raclage cutané (et éclaircissement de la préparation dans la potasse) Cependant ce sont l'examen de biopsies et la culture (3 à 4 semaines) sur gélose de Sabouraud sans cycloheximide qui fournissent un diagnostic définitif Le traitement est à la fois chirurgical et médicamenteux, à base d'antifongiques ou d'antibiotiques appropriés

CHROMOMYCOSES

Ces pathologies d'Afrique et d'Amérique latine se caractérisent par l'apparition de nodules verruqueux Les principaux agents des chromomycoses sont *Phialophora (Fonsecaea) pedrosi, P verrucosa* et *Cladosponum carrionn.*

SPOROTRICHOSE

II s'agit de la seule mycose sous-cutanée pouvant survenir dans les régions tempérées, quoique rarement L'agent responsable est un champignon dimorphique, *Sporothnx schenckn* Dans les tissus, il est présent sous la forme levure II provoque une lésion nodulaire qui s ulcère Des nodules secondaires apparaissent ensuite le long des canaux lymphatiques drainant la lésion initiale (383)



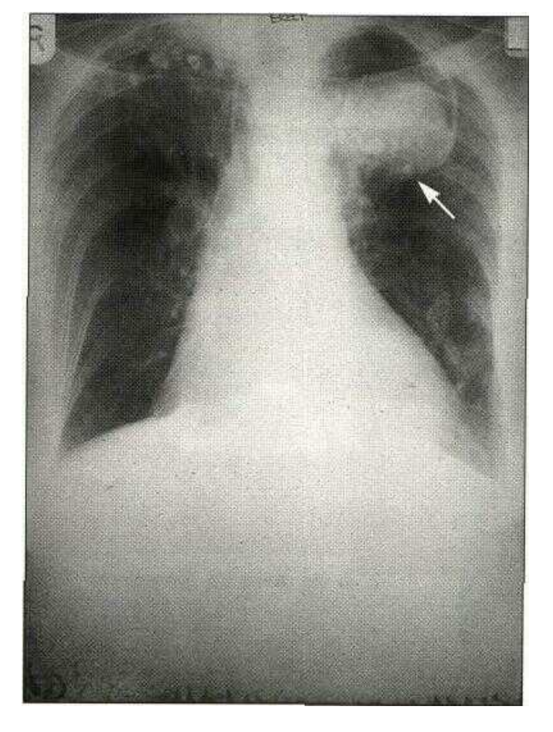
383 Sporotrichose. Exemple de sporotnchose, **avec** des lésions secondaires **sur le trajet** lymphatique

MYCOSES SYSTÉMIQUES

La plupart de ces infections résultent de l'inhalation de spores, bien que *Candida albicans* provienne plutôt du tube digestif ou de dispositifs intra-vasculaires. Plusieurs d'entre elles, comme l'histoplasmose et la paracoccidiomycose, sont limitées à des régions géographiques dont le climat est optimal pour la croissance du pathogène. Certaines affectent des individus auparavant en bonne santé, mais beaucoup sont des infections opportunistes.

ASPERGILLOSES

Aspergillus fumigatus, A. flavus et A. *niger* sont les principaux pathogènes. Ce sont surtout des agents opportunistes. Ils peuvent coloniser des cavités pulmonaires préexistantes, provoquant un aspergillome (384), ou envahir le tissu pulmonaire, voire d'autres

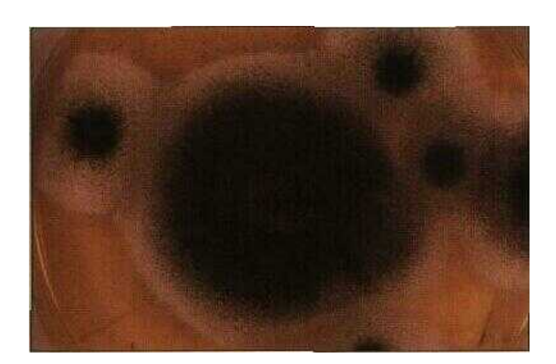


334 Radiographie pulmonaire montrant un aspergillome. La cavité pulmonaire indiquée par la flèche contient l'aspergillome.

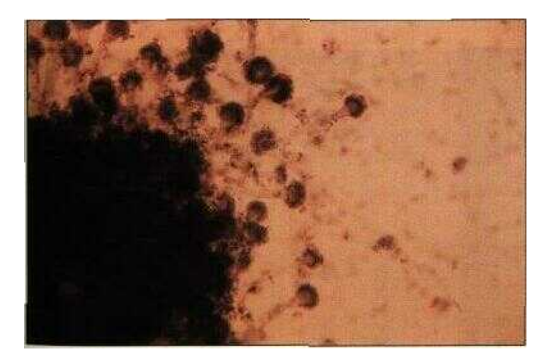
'tissus chez les patients immunodéprimés. Ils sont ubiquitaires dans l'environnement. Récemment, une augmentation du nombre d'infections, par exemple dans des unités de greffe de moelle osseuse, a été associée à des travaux de construction, d'excavation, ou de réhabilitation au voisinage des hôpitaux. A. *fumigatus* forme des colonies vertes et veloutées (385), et produit des conidies en colonne dans l'axe de la tige du conidiophore (386).

BLASTOMYCOSE

Cette infection que l'on pensait limitée à l'Amérique du Nord a été rapportée en Afrique et en Asie. *Blastomyces dermatitidis* est un champignon dimorphique, dont l'origine demeure inconnue. Les localisations initiales sont pulmonaires, mais les patients présentent habituellement des lésions cutanées.



385 Culture de *Aspergillus fumigatus* sur gélose de Sabouraud glucosée.



386 Culture de *Aspergillus fumigatus.*
Préparation colorée par le lactophénol au bleu coton de *Aspergillus fumigatus* après culture sur milieu de Sabouraud, montrant un conidiophore et des microconidies.

CANDIDOSES

Le principal agent pathogène est *Candida albicans*, mais C. *glabrata, C. parapsilosis* et C. *tropicalis* peuvent aussi être à l'origine d'infections. C. *albicans est* responsable d'infections superficielles aussi bien que systémiques, ces dernières ne survenant que chez des individus immunodéprimés. Il fait partie de la flore normale de l'intestin. Les infections superficielles comprennent le muguet (387), des vulvo-vaginites, des intertrigo (plis



387 *Candida albicans* *sur* la muqueuse buccale. Muguet buccal avec un placard blanc de C. *albicans* sur la muqueuse buccale. Le décapage de la lésion révèle l'inflammation sous-jacente.

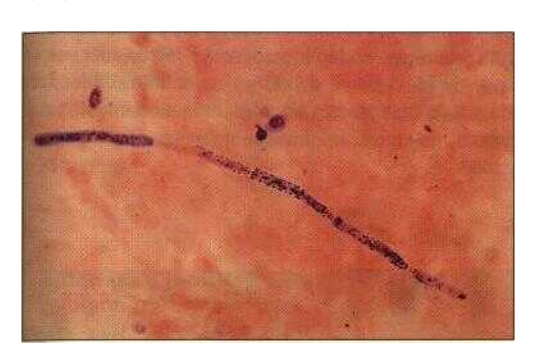


388 Imertriao.

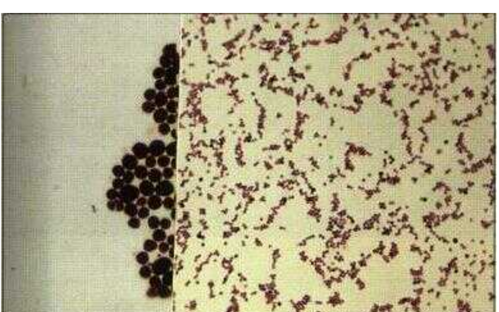


389 Boule fongique *(fungus bail)* dans un rein. Échographie abdominale du rein d'un nouveau-né montrant une boule fongique dans le calice rénal. *Candida albicans a* été retrouvé à l'ECBU.

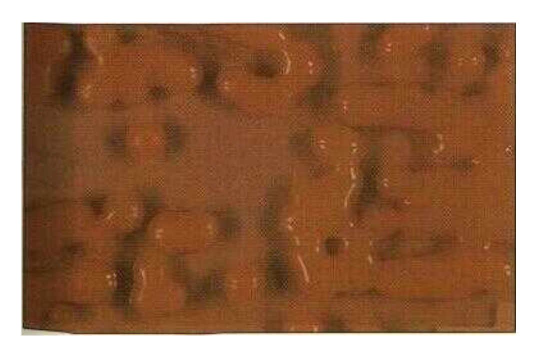
[cutanés humides) (388), des onychomycoses et périonyxis. Les infections disséminées |peuvent survenir dans n'importe quelle partie de l'organisme. Les prématurés, en particulier, sont sujets à des infections urinaires qui peuvent remonter jusqu'au rein avec formation d'une boule fongique ou *fungus bail* (389). Dans les tissus envahis, il y a production de pseudofilaments (390). Sur frottis coloré au Gram, on voit de grosses blastospores pléomorphes à Gram positif (391). Les *Candida* poussent bien sur milieu de Sabouraud **(392)** ou sur eélose au sana. La différenciation de C. *albicans des* autres espèces se fait



390 *Candida albicans* dans un pus. Coloration de Gram d'une préparation de pus d'abcès cutané dû à C. *albicans* montrant un pseudofilament.



391 Tailles comparées de *Candida albicans et Staphylococcus aureus.* Deux lames de C *albicans* (à gauche) et de 5. aureus (à droite). Les blastospores de C. *albicans* sont deux à trois fois plus grosses que les cocci de S. aureus.

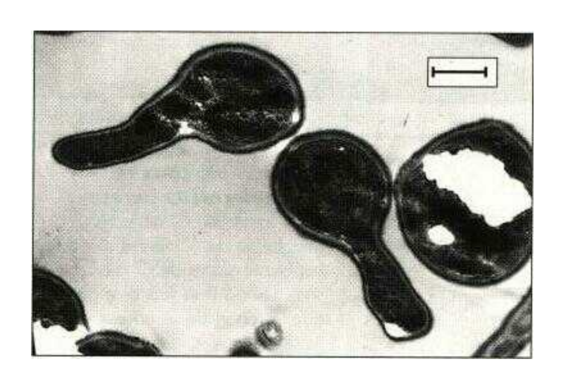


392 Culture de *Candida albicans* sur gélose de Sabouraud glucosée.

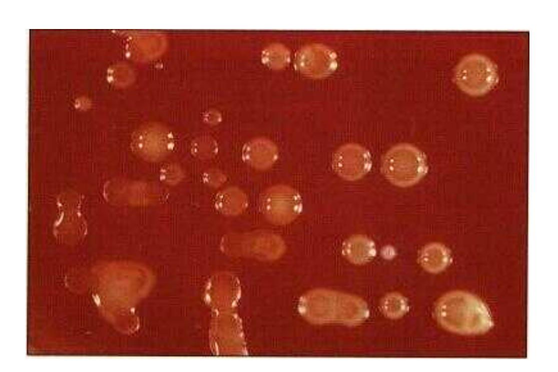
par un test de filamentation à 37 °C dans du sérum, C. *albicans* produisant un tube germinatif (393). La nystatine est utilisée en traitement local et l'amphotéricine B (en liposomes et associée ou non à la 5-fluorocytosine) ou le **fluconazole** dans les infections systémiques.

COCCIDIOMYCOSE

Coccidioides immitis est un champignon tellurique, endémique dans les régions sèches et désertiques du sud-ouest des États-Unis, du Mexique et d'Amérique Centrale. L'infection est essentiellement respiratoire, mais la dissémination est possible. L'infection initiale limitée au poumon est souvent spontanément résolutive. Le traitement fait appel à l'amphotéricine B ou aux antifongiques imidazolés.



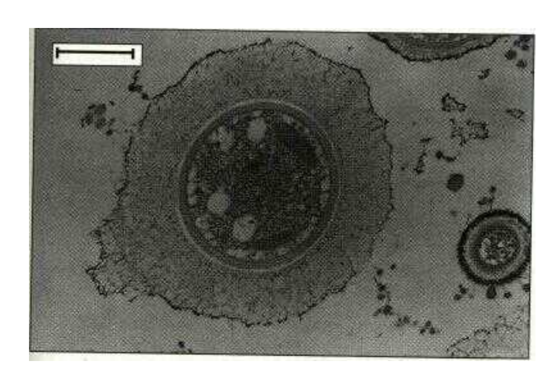
393 Microphotographie électronique de *Candides albicans.* Coupe de C. *albicans* montrant un tube germinatif. *(barre = 5 µm)*



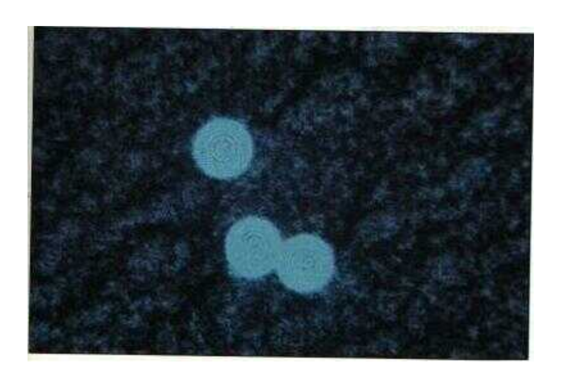
394 Culture de *Cryptococcus neoformans.* Colonies muqueuses sur gélose au sang. La surface luisante des colonies est due à l'abondante capsule polysaccharidique produite par la forme levure. fGé/ose au sang, ***18 h à 37*** *°C]*

CRYPTOCOCCOSE

Cryptococcus neoformans est un champignon dimorphique, habituellement responsable d'infections opportunistes, mais parfois aussi un pathogène primaire. A température ambiante, il produit des filaments, alors qu'à température corporelle c'est une levure. Il accède aux poumons, et peut disséminer rapidement jusqu'au système nerveux central, provoquant une méningite cryptococcique. 11 pousse bien sur gélose de Sabouraud ou sur gélose au sang (394), milieu sur lequel il produit des colonies muqueuses. Ce caractère résulte de la présence d'une épaisse capsule polysaccharidique (395), visible après coloration à l'encre de Chine, soit à l'examen direct du liquide céphalorachidien (396), soit à partir des colonies. Un test d'agglutination de particules de latex est également disponible pour le diagnostic rapide. Le traitement est identique à celui des candidoses disséminées.



395 Microphotographie électronique de *Cryptococcus neoformans*. Coupe de C. *neoformans* colorée au rouge de ruthénium pour mettre en évidence la capsule. *{barre = S µm)*



396 Liquide céphalorachidien de méningite cryptococcique. Coloration à l'encre de Chine.

HISTOPIASMOSE

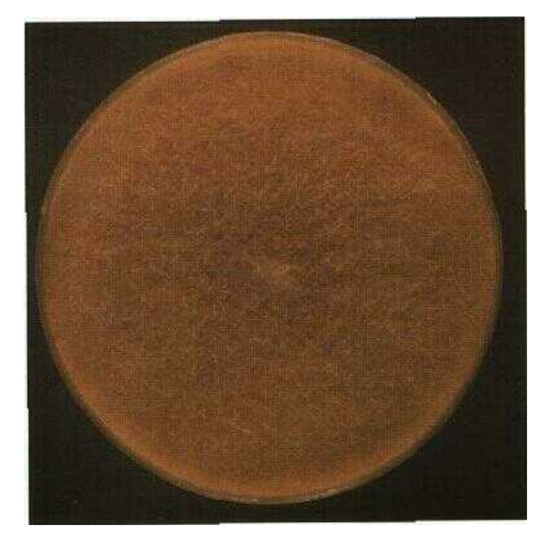
Histoplasma capsulatum est responsable d'infections pulmonaires aiguës et chroniques, qui disséminent rarement. On le trouve dans des terrains contenant des déjections d'oiseaux (et surtout de chauve-souris, *NdT).* L'infection est particulièrement fréquente aux États-Unis, au Mississippi et dans les États voisins.

PARACOCCIDIOMYCOSE

Paracoccidioides brasiliensis est à l'origine d'infections buccales et pulmonaires (granulomes). On ne le rencontre qu'en Amérique Centrale et du Sud.

ZYGOMYCOSES (PHYCOMYCOSES, MUCORMYCOSES)

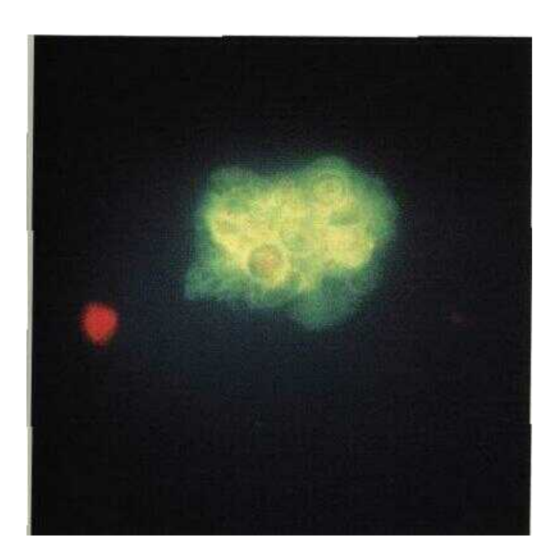
Ce sont des infections de patients immunodéprimés, à évolution rapide. Les infections pulmonaires sont associées aux effets immunosuppresseurs des chimiothérapies cytotoxiques, les infections gastriques sont plutôt liées à la malnutrition, et les infections rhinocérébrales au diabète. Les principaux pathogènes sont *Mucor pusillus* (397), et *Absidia corymbitera.* Pour traiter les mucormycoses, le seul antifongique possédant une efficacité ***in vitro* est l'amphotéricine B.**



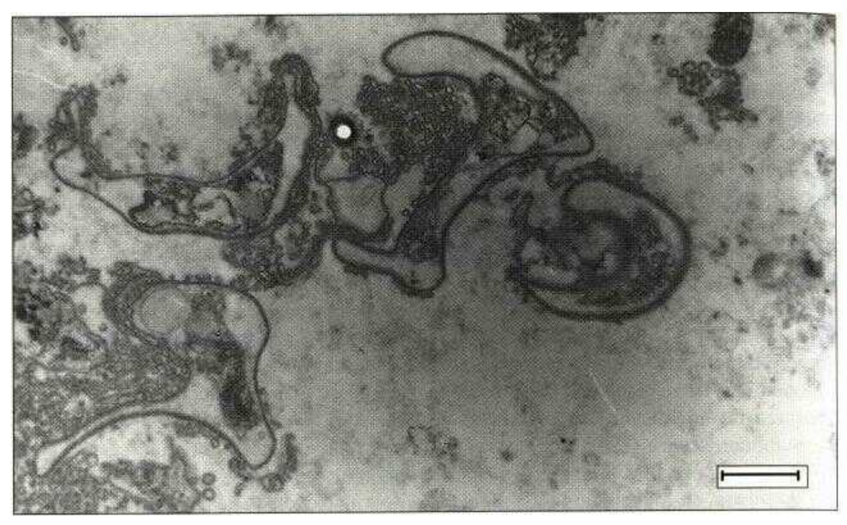
397 Culture de *Mucor pusillus* sur gélose de Sabouraud glucosée.

PNEUMOCYSTIS CÀRINII

II existe une controverse concernant le règne auquel appartient ce pathogène de l'arbre respiratoire. Initialement, sur des considérations morphologiques et de sensibilité aux agents antimicrobiens, il a été rangé chez les protozoaires. Cependant, l'analyse récente de séquences des gènes codant l'ARN ribosomal 18S le placerait plus près des *Candida* et des *Saccharomyces.* De plus, sa dihydrofolate réductase (inhibée par le triméthoprime) et sa thymidilate synthétase sont indépendantes, alors qu'elles sont codées par un gène unique chez les protozoaires. Malheureusement, il n'a jamais été possible de cultiver P. *carinii in vitro.* Chez le sujet immunocompétent, l'infection est asymptomatique. Chez l'immunodéprimé (SIDA, chimiothérapie cytotoxique, voire malnutrition), ce parasite est responsable de pneumopathies graves. De nombreuses observations indiquent qu'un grand nombre d'individus sont exposés dès leur plus jeune âge, et que les kystes restent dans les poumons, ne se réactivant que lorsque l'immunité est altérée. Le diagnostic repose sur l'examen du liquide de lavage broncho-alvéolaire après coloration argentique ou par immunofluorescence (398). La biopsie pulmonaire peut également être intéressante pour mettre en évidence les kystes et les trophozoïtes en microscopie électronique (399) ou par imprégnation argentique **(400).** Récemment, la détection par PCR du génome de *P. carinii* a été utilisée pour mettre en évidence le germe dans du liquide d'aspiration naso-pharyngée. Le traitement consiste en l'administration de cotrimoxazole à forte dose, de dapsone, ou de pentamidine. Le cotrimoxazole est également utilisé en prophylaxie chez le sujet immunodéprimé.



398 ***Pneumocystis carinii* en immunoflurescence.** Mise en évidence directe sur un liquide de lavage broncho-alvéolaire.



399 Microphotographie électronique de *Pneumocystis carinii* dans les poumons. Coupe de poumon montrant des kystes de *P. carinii* *(barre = 5 µm)*

400 Kystes pulmonaires de *Pneumocystis carinii*. Colçrotion argentique.

6.
Parasites d'intérêt médical

Ce chapitre traite des protozoaires (parasites unicellulaires) et **des helminthes (parasites** pluncellulaires) rencontrés en microbiologie médicale.

PROTOZOAIRES

De nombreux protozoaires se rencontrent dans l'environnement animé et inanimé; certains sont même des commensaux de l'homme (ex. *Entamoeba coli. Endolimax nana).* Seul un petit nombre sont pathogènes pour l'homme **(401).** La classification des protozoaires repose sur des caractères morphologiques et biologiques, mais il est aussi pratique de les séparer en pathogènes des muqueuses et pathogènes des tissus et du sang **(402).**

PATHOGÈNES DES MUQUEUSES

Microsporidies

Les microsporidies, et spécifiquement *Enterocytozoon bieneusii,* sont responsables **de** diarrhées chez les sujets immunodéprimés, en particulier sidéens On peut aussi observer chez ces patients des conjonctivites à microsporidies. Le diagnostic définitif repose sur **la** mise en évidence des organismes dans des biopsies intestinales **(403).** On peut aussi les détecter dans les selles par coloration au trichrome. On traite par le cotrimoxazole ou l'albendazole, mais les rechutes sont fréquentes.

Entamoeba histolytica

Cette amibe existe sous diverses variétés de souches ou zymodèmes (selon leur profit isoenzymatique), dont quelques-uns seulement sont pathogènes (à l'heure actuelle, les zymodèmes non pathogènes sont plutôt rangés dans l'espèce *Entamoeba dispar, NdT).* Elle est à l'origine de la dysenterie amibienne et peut traverser le gros intestin et provoquer des abcès du foie La transmission est oro-fécale, par ingestion d'aliments ou d'eau contaminés par des kystes (404). Le diagnostic d'espèce est effectué sur des selles fraîches, à la recherche de trophozoïtes contenant des hématies ingérées (405). Les trophozoïtes sont également présents dans des échantillons d'ulcération colique obtenus par grattage, et à l'examen histologique de biopsies (406). Les traitements sont à base de composés nitro-imidazolés (ex. métronidazole).

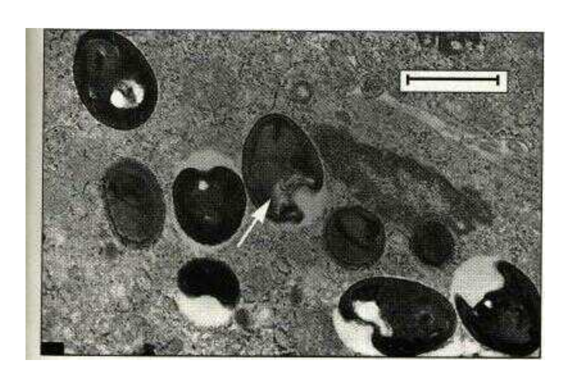
- PROTOZOAIRES
  - SARCOMASTIGOPHORA
    - MASTIGOPHORA
      - *Trypanosoma*
      - *Leishmania*
      - *Trichomonas vaginalis*
      - *Giardia lamblia*
    - SARCODINA
      - *Naegleria fowleri*
      - *Entamoeba histolytica*
  - CNIDOSPORA
    - NON PATHOGÈNES POUR L'HOMME
  - APICOMPLEXA
    - TELOSPORA
      - *Plasmodium*
      - *Isospora belli*
      - *Cryptosporidium parvum*
      - *Cyclospora cayetanensis*
      - *Toxoplasma gondii*
  - CILIOPHORA
    - CILIATEA
      - *Balantidium coli*

401 Protozoaires d'importance médicale.

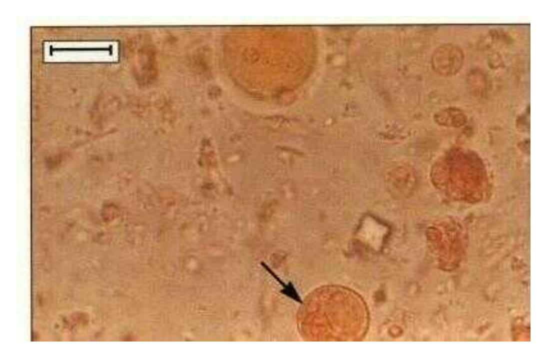
Protozoaires pathogènes

PATHOGÈNES DES MUQUEUSES	PATHOGÈNES DU SANG ET DES TISSUS
Enterocytozoon bieneusii – diarrhée	*Entamoeba histolytica* – abcès hépatique
Entamoeba histolytica – dysenterie amibienne	*Naegleria fowleri* – méningite
Giardia lamblia (intestinalis) – diarrhée	*Trypanosoma brucei* – maladie du sommeil
Trichomonas vaginalis – vaginite	*Trypanosoma cruzi* – maladie de Chagas
Isospora belli – diarrhée	*Leishmania donovani* – kala-azar
Cryptosporidium parvum – diarrhée	*Leishmania tropica* – bouton d'Orient
Cyclospora cayetanensis – diarrhée	
Balantidium coli – syndrome dysentérique	
	Plasmodium falciparum – paludisme, neuropaludisme
	Plasmodium ovale – paludisme (fièvre tierce bénigne)
	Plasmodium malariae – paludisme (fièvre quarte)
	Plasmodium vivax – paludisme (fièvre tierce bénigne)
	Toxoplasma gondii – encéphalomyélite, rétinite

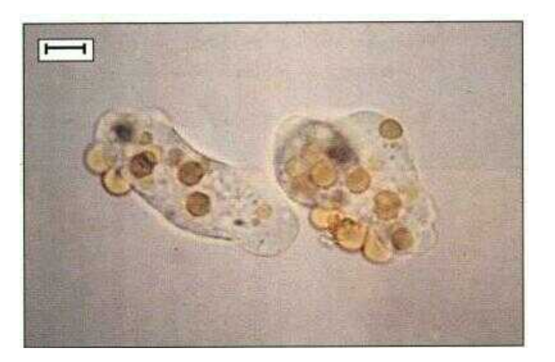
402 Protozoaires pathogènes.



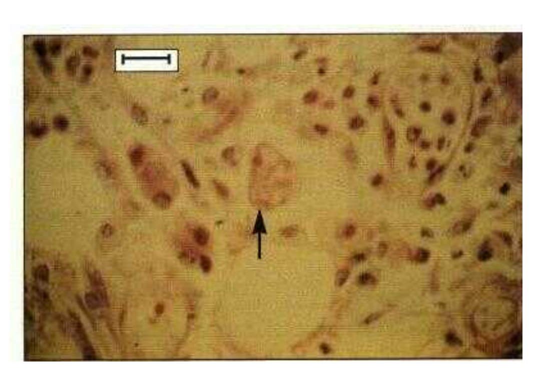
403 Microphotographie électronique de *Enterocytozoon bieneusii.* Coupe d'entérocytes duodénaux infectés par *E. bieneusii* (microsporidiose). Le filament polaire (flèche), utilisé pour l'amarrage à la cellule à infecter, a été sectionné lors de la coupe, *(barre = 100 nmj*



404 Kystes de *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba coll.* Coloration au Lugol d une selle examinée entre lame et lamelle montrant des kystes d *E histolytica* (flèche), et l'espèce non pathogène £ co/i fbcirre = *10 µm)*



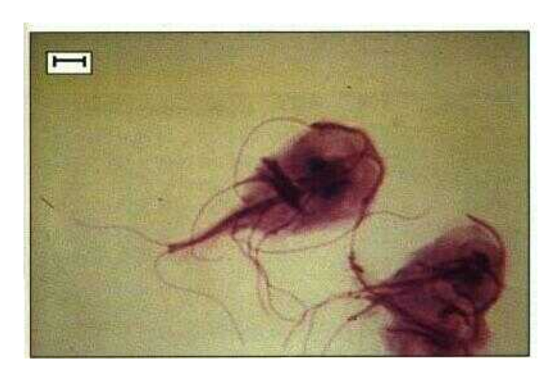
405 Trophozoftes de Entomoebo *histolytica.* Trophozoïtes ayant ingère **des** hématies Cette image est pathognomomque de E *histolytica (barre =* ***10 µm)***



406 *Enfamoeba histolytica* dans une biopsie. Coupe de biopsie rectale colorée a l'hematoxyline eosine La coupe montre un abcès amibien, avec infiltrât de cellules inflammatoires et E *histolytica* (flèche) *(barre = 30 µm)*

Giardia intestinalis (syn. *Giardia lamblia]*

11 s'agit d'un protozoaire parasite flagellé caracténstiquement pinforme (407) Sa transmission est oro fécale et il peut survivre dans 1 eau pendant de longues périodes Les kystes sont excrètes et constituent la forme infectieuse (408) *Giardia* infecte la partie proximale du grêle entraînant une affection diarrheique II existe des patients chez qui 1 infection est asymptomatique et d autres chez qui elle est chronique Le diagnostic repose sur la présence de kystes dans les selles ou de tiophozoïtes dans le liquide duodenal (obtenu sous fibroscopie) Le traitement est a base de composes nitro imidazoles



407 Trophozoïtes de *Giardia intestinalis (lamblia).* Les Flagelles sont clairement visibles *(barre = 5 µm)*



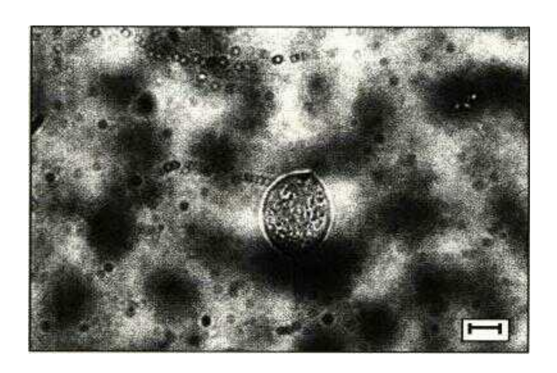
408 Kystes de *Giardia intestinalis (lamblia).* Kystes dans les selles observes au microscope a contraste de phase de Normarski *(barre = 5 µm)*

Trichomonas vaginalis

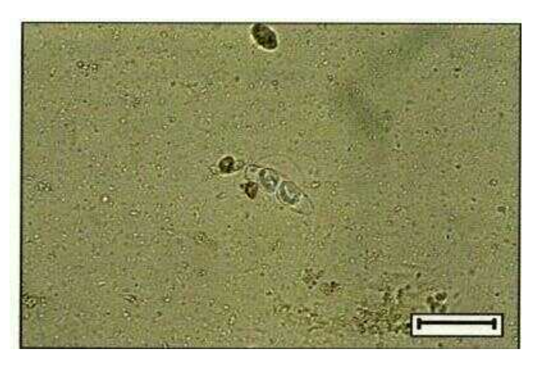
Ce protozoaire flagelle mesure 5 à 15 µm mais peut atteindre 30 u.m (409) Comme son nom 1 indique il est responsable de vaginite qui se présente habituellement sous la forme de pertes souvent abondantes et occasionnant une inflammation penneale A la colpo scopie la muqueuse vaginale apparaît inflammatoire avec des lésions ponctiformes On peut aussi observer une dysune et une pollakiune L infection chez 1 homme est norma lement asymptomatique mais peut exceptionnellement entraîner une prostatite ou une epididymite Le diagnostic repose sur 1 examen direct des pertes vaginales au microscope à contraste de phase Le **traitement consiste en 1 administration d un nitro-imidazolé**

Isospora belli

L infection est en général asymptomatique mais peut provoquer de graves diarrhées chez les patients immunodeprimes en particulier sidéens La transmission est oro fécale et la forme infectante est 1 oocyste (environ 30 u.m x 12 u.m) qui contient deux sporocystes **(410)** Loocyste est immature au moment de 1 excrétion et il mûrit dans les selles pour



409 ***Trichomonas vaginalis.*** Etat frais en microscopie a contraste de phase Le flagelle qui communique le mouvement est visible *(barre = S µm)*

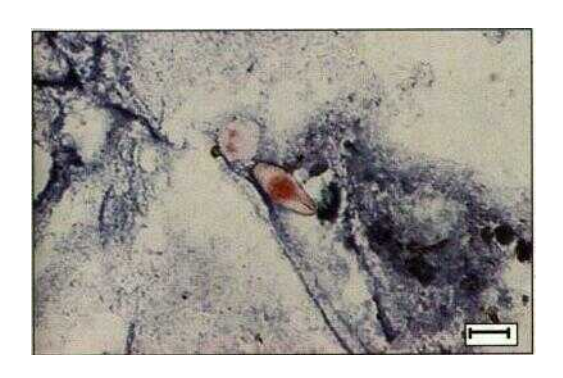


410 Oocystes et sporocystes de *Isospora belli.* Coloration au Lugol d une selle examinée entre lame et lamelle montrant un oocyste de *1 belli* Les deux sporocystes sont visibles a 1 intérieur de 1 oocyste *(barre = 20 pm)*

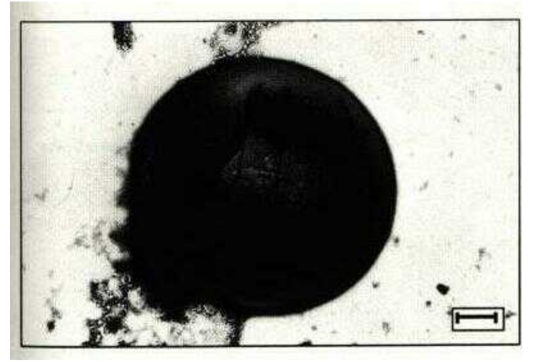
devenir infectant Le diagnostic est réalisé après coloration de frottis de selles par la technique de Ziehl Neelsen modifiée ou à la safranme-bleu de méthylène (411) Le cotnmoxazole est le traitement de choix

Cryptosporidium parvum

Cette petite coccidie parasite est une cause majeure de diarrhée de 1 entant (2 à 19 % des cas) et un pathogène qui peut être mortel chez 1 immunodepnme Sa transmission est oro fécale et les premiers cas rapportes étaient d origine animale Cependant la contamination mter humaine est au moins aussi importante Loocyste est la forme infectante (412) et ceci des 1 excrétion qui se fait en quantités énormes II est de petite taille (4 a 5 u.m) et sa paroi épaisse lui confère une grande résistance a de nombreux desinfectants II en est resuite d importantes épidémies de diarrhées a partir d eau contaminée Qusqu a 250 000 patients) aux Etats Unis et au Royaume Uni Loocyste contient quatre sporocystes qui s attachent puis pénètrent dans les enterocytes Ils se transforment en trophozoïtes (413) que 1 on décrit comme étant mtra enterocytaires mais extra cytoplasmiques car ils sont sépares de la partie centrale de 1 enterocyte par une membrane appelée membrane



411 Oocyste et sporocyste de *Isospora belli.* Coloration a la safranine bleu de méthylène de / *belli* Le sporo cyste immature fixe la safranine (rosé) et la paroi de 1 oocyste le bleu de méthylène *(barre = 10 µm)*

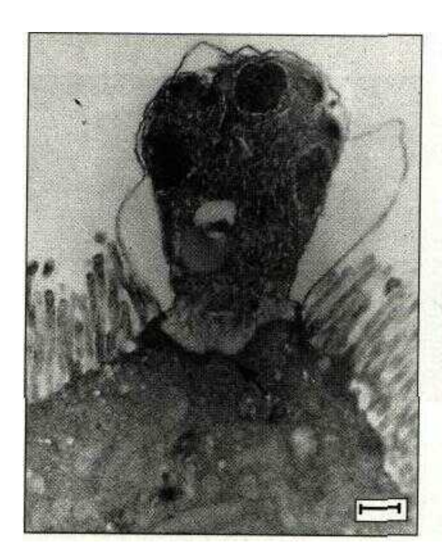


412 Microphotographie électronique en coloration négative d'un oocyste de *Cryptosporidium parvum.* *{barre = 1 µm)*

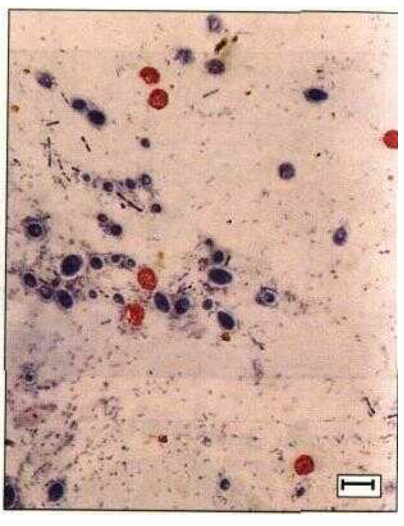
nutritive (membrane de Tyzzer, *NdT)* Le mécanisme de la diarrhée n'est pas élucidé Le diagnostic est réalise par examen microscopique de frottis de selles colore par la tech nique de Ziehl Neelsen modifiée par coloration a la safranine bleu de méthylène (414) ou encore a 1 auramine pheniquee (415) Des tests d immunofluorescence et de type ELISA sont également disponibles pour la détection d antigène ou la sérologie II n existe aucun traitement ayant fait preuve **de son efficacité**

Cyclospora cayetanensis

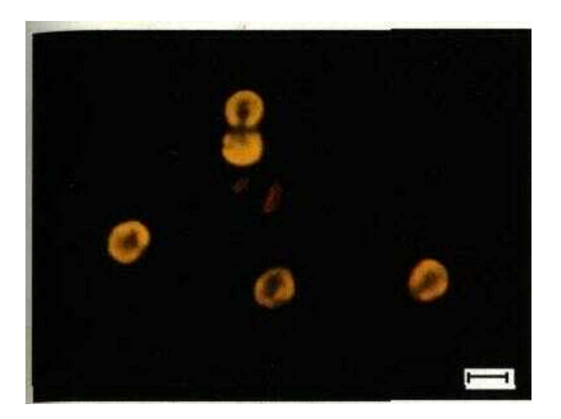
Ce protozoaire récemment décrit est responsable de diarrhées au long cours Sa trans mission est oro-fecale et des épidémies a partir d eau contaminée sont survenues dans des pays en voie de développement La forme infectante est un oocyste a la paroi épaisse qui peut atteindre 8 u.m de diamètre **(416)** Le diagnostic est réalise par examen micro scopique de frottis de selles convenablement colorés (417) Le traitement consiste en 1 administration de cotnmoxazole



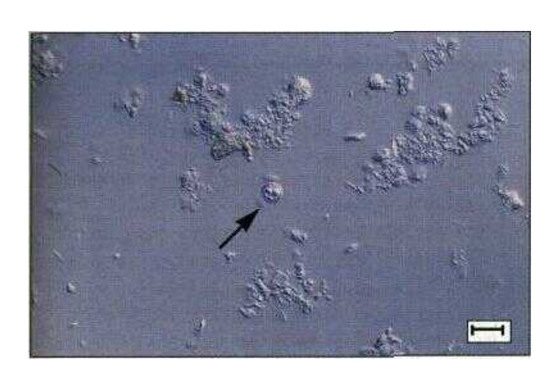
•la **Cryptosporidium parvum dans une biopsie.** Coupe de biopsie duodenale chez un patient atteint de cryptospondiose Un trophozoïte se trouve dans l'enterocyte, mais il est sépare du reste du cytoplasme par la membrane de Tyzzer (dite membrane nutritive) *(barre = 5 pmj*



414 Oocystes de *Cryptosporidium parvum.* Frottis de selles colore par la safranme bleu de méthylène Les oocystes de C *parvum* sont colores en rosé, alors que les autres éléments apparaissent en bleu *(barre = 10 µm)*



415 ***Cryptosporidium parvum* en microscopie à fluorescence.** Frottis de selle colore a 1 auramine pheniquee et observe au microscope a fluorescence Les oocystes retiennent l'auramine pheniquee, et apparaissent fluorescents *(barre = 5 pm)*



416 **Kystes** de ***Cyclospora cayetanensis.*** Etat frais de selle contenant des kystes de C cayetonensis (flèche), observes en microscopie a contraste de phase de Normarski *(barre = 5 pm)*



417 ***Cyclospora cayetanensis.*** Selle contenant C cayetonensis, coloration à la safranme bleu de méthylène *(barre = 5 \im}*

Balantidium coli

B. coli est le seul protozoaire cilié qui infecte l'homme (418). Il est responsable de rares cas de diarrhées. On peut le traiter par une tétracycline.

PATHOGÈNES DU SANG ET DES TISSUS

Naegleria fowleri

II s'agit d'une amibe possédant une forme flagellée, mais qui est amiboïde dans les tissus. Elle est à l'origine de rares cas de méningite purulente, survenant à partir d'eau de piscine contaminée Des cas ont été décrits chez des sujets ayant fréquenté les bains romains de la ville de Bath en Angleterre, à la suite d'insufflation d'eau chaude dans le nez. Le diagnostic s'effectue par examen direct du liquide céphalorachidien. Le traitement par amphotéricine B pourrait être potentialisé par les tétracyclines.

Trypanosomes

Deux types de pathologies dues à des trypanosomes surviennent chez l'homme. La maladie du sommeil en Afrique est due à *Trypanosoma brucei* (subsp. *gambiense* et *rhodesiense).* Elle est transmise par la morsure de la mouche tsé-tsé (G/ossma *palpalis* pour *T. b. gambiense, G. morsitans* pour *T. b. rhodesiense)* La variété d'Afrique de l'Est *(T. b. rhodesiense)* est plus virulente, mais les deux peuvent entraîner une méningoencéphalite. Le réservoir de *T b rhodesiense* est le gibier et le bétail domestique. Aucun réservoir animal de *T b. gambiense* n'a été identifié. Le diagnostic repose sur l'identification des formes trypomastigotes sur frottis sanguin **(419).** Le traitement consiste à administrer de la suramine, du mélarsoprol ou de la pentamidine.

T. cruzi est transmis par les déjections d'une punaise (la réduve, *Panstrongylus megistus).* Le trypanosome se développe dans le tube digestif de la punaise, qui défèque sur l'homme au moment de la piqûre urticante. *T. cruzi* pénètre alors par grattage dans les tissus sous-cutanés, et produit un chagome au point d'inoculation, accompagné du signe de

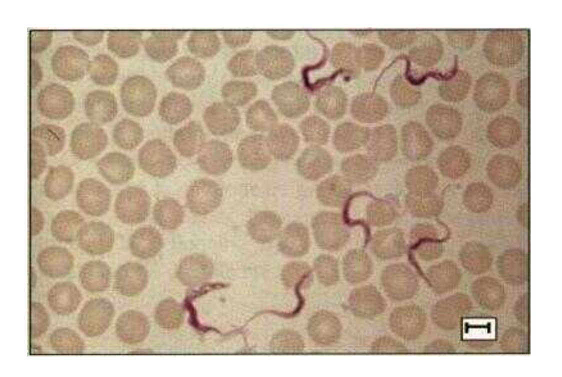


41g *Balantidium coli* *dans* une biopsie rectale.
(barre = 10 \im)

Romana (420). Le parasite dissémine ensuite par voie sanguine, au foie et à la rate, où il peut être éliminé. Dans le cas contraire, il se développe intracellulairement sous forme amastigote, dans le muscle cardiaque ou d'autres tissus. Son aire géographique est l'Amérique du Sud (au sud du Tropique du Cancer), avec une prédominance au Brésil Les animaux servant de réservoir sont les chats, les chiens et les tatous La maladie de Chagas est diagnostiquée par la présence de formes amastigotes dans les tissus et la réponse IgM. Le seul traitement disponible est un dérivé de la nitrofurfurylidine, le nifurtimox (Lampit[ND], *NdT)*

Leishmanies

Le bouton d'Orient **(421)** est dû à *Leishmania tropica*, et est transmis par un phlébotome. On l'observe dans les régions du sud et de l'est de la Méditerranée, dans les États du sud de l'ex-URSS (Arménie, Azerbaïdjan), en Afghanistan et en Inde. Le réservoir est humain. Le diagnostic est d'abord clinique, mais on peut aussi mettre en évidence des formes amastigotes dans les macrophages de la lésion. Le traitement est le Glucantime[ND].



419 ***Trypanosoma brucei* dans un frottis sanguin.** Frottis sanguin de patient atteint de la maladie du sommeil. Les (ormes trypomastigotes de T brucei apparaissent clairement. *(barre = S µm)*



420 Signe de Romana chez un enfant infecté par *Trypanosoma cruzi.*

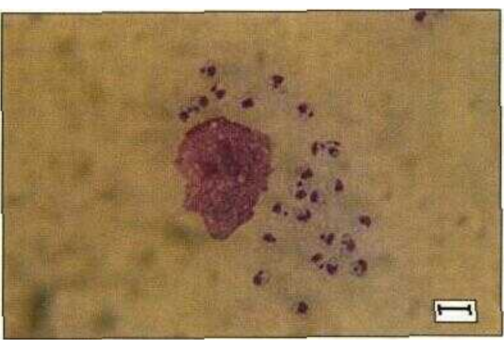
[ND] Nom déposé

La leishmaniose cutanéo-muqueuse due à L. *brasiliensis* est endémique en Amérique du Sud où on l'appelle *espundia* Le réservoir est constitué des chiens et des rongeurs des forêts Le vecteur est un phlébotome.

La leishmaniose viscérale ou kala-azar est due à *L. donovani* Elle sévit dans de nombreuses régions d'Afrique et d'Asie ainsi que dans le sud de l'Europe. Le vecteur est un phlébotome et le réservoir semble être canin. L'infection est fébrile, avec des malaises, une anémie et une hépatosplénomégalie. Le diagnostic est porté en présence du parasite dans les macrophages (422) sur **ponction splénique, hépatique, ou de moelle osseuse.** Le traitement est le Glucantime[ND].



-_- Bouton d'Orient dû à *Loishmania HVpka* chez un enfant.



422 Macrophage contenant des formes amastigotes. Coloration de Giemsa d'une ponction de moelle osseuse chez un enfant souffrant du kala-azar. On voit ici un macrophage contenant de nombreuses formes amastigotes. *(barre = 10 µm)*

Plasmodium

Ce sont des protozoaires au cycle complexe chez le moustique et l'homme. Ils se multiplient dans l'intestin de l'insecte. Les sporozoïtes sont transmis à l'homme par le moustique femelle lors du repas sanguin. Chez l'homme, le parasite passe par deux phases, intra- et extra-érythrocytaire *Plasmodium falciparum* est responsable de paludisme après une incubation de 8 à 11 jours.

La fièvre survient toutes les 36 à 48 h et **un premier accès palustre non traité dure 2 à 3** semaines L'infection peut persister pendant **6 à 11 mois. Les principales complications** sont le neuropaludisme (423) et l'anémie.

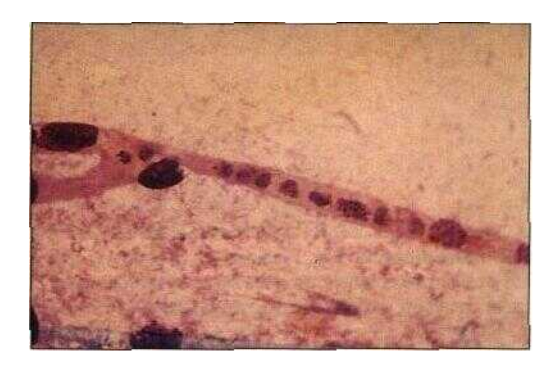
P. vivax est un agent de fièvre tierce bénigne, après une incubation de 10 à 17 jours. La fièvre survient toutes les 48 h et un premier accès non traité dure 3 à 8 semaines ou plus. L'infection peut persister pendant 5 à 7 ans. L'anémie est la principale complication. La mortalité est faible

P. malariae est responsable de fièvre quarte, après une incubation de 18 à 40 jours. La fièvre survient toutes les 72 h et un premier accès non traité dure 3 à 24 semaines L'infection peut persister pendant 20 ans avec des réactivations Parmi les complications, on peut observer une protéinune et parfois un syndrome néphrotique (néphrite quartane, *NdT).*

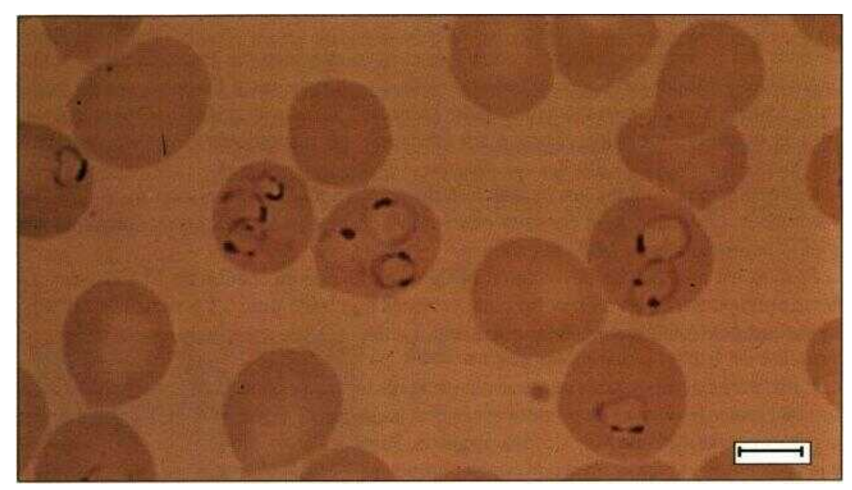
P. ovale est un agent de fièvre tierce, après une incubation de 10 à 17 jours. La fièvre survient toutes les 48 h et un premier accès non traité dure 2 à 3 semaines. L'infection peut persister pendant 12 mois II s'agit en général d'une affection bénigne.

Le diagnostic est porté après examen d'une goutte épaisse et d'un frottis sanguin, colorés par la méthode de May-Grûnwald-Giemsa **(424 à 427)**

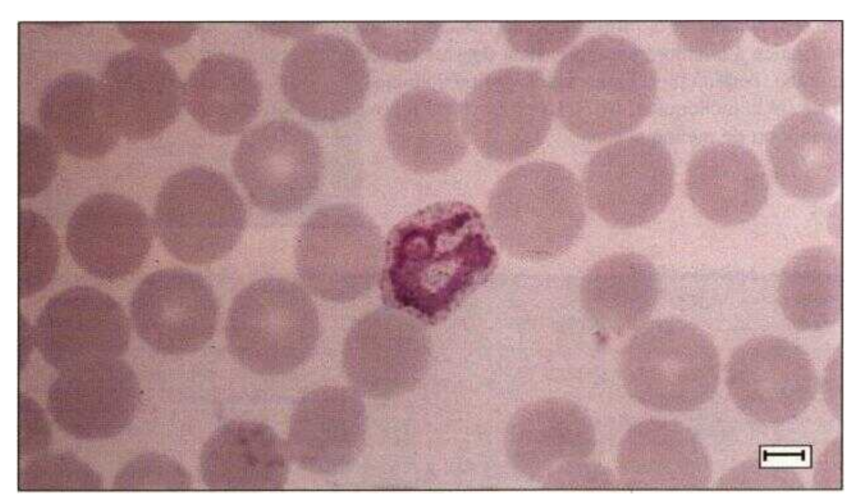
Le traitement et la prophylaxie dépendent de l'origine géographique de l'infection, la résistance à la chloroquine prévalant de plus en plus. Les options thérapeutiques sont la quinine, l'artéméther, l'association pyriméthamine-sulfadoxine (Fansidar[ND]), et l'halofantrine (et la méfloquine, *NdT).* La prophylaxie repose sur la prise de chloroqume, de proguanil, ou de méfloquine.



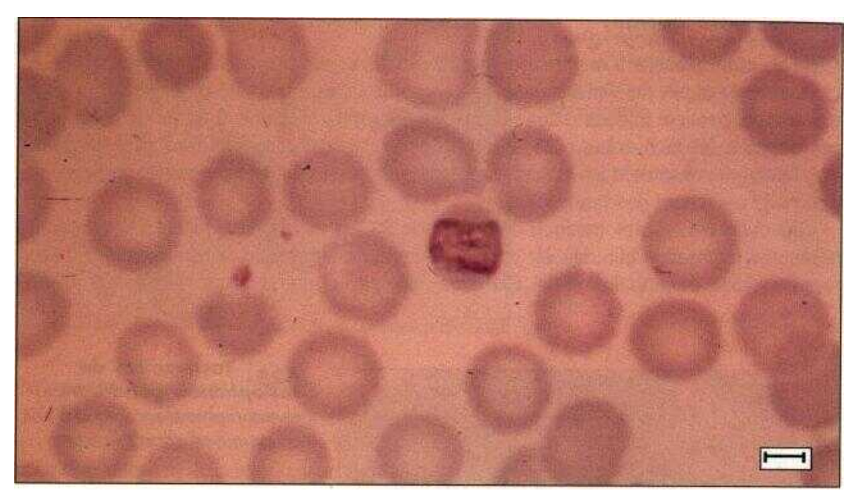
423 Vaisseau cérébral lors de neuropaludisme. Vaisseau cérébral d'un enfant mort de neuropaludisme. Les hématies sont adhérentes à l'er dothélium capillaire.



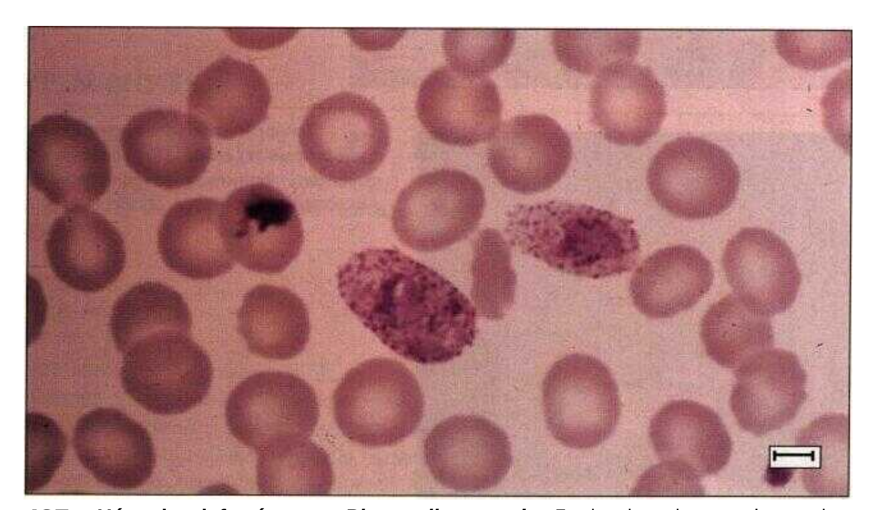
424 Trophozoïtes de *Plasmodium falciparum.* Frottis mince du sang d un patient atteint de paludisme a P *falciparum* On distingue des formes en bague a chaton de P *hicipa rum* *(barre = 5 µm) (Copyright Liverpool School* or *Tropical Médiane)*



425 Trophozo'fte annulaire de *Plasmodium vivax.* Frottis mince du sang d un patient atteint de paludisme a P *vivax* (fièvre tierce bénigne) On peut voir une hématie ami boide (au centre) contenant un trophozofte annulaire de *Plasmodium vivax* *(barre* = 5 *µm)* *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*



426 ***Plasmodium malariae*** **intra-érythrocytaire.** Frottis mince du sang d un patient atteint de paludisme a P *malariae* (fièvre quarte) On peut voir une forme en bandeau de P *malariae* dans une hématie *(barre = 5 pmj (Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*



427 **Hématies infectées par** ***Plasmodium ovale.*** Frottis mince du sang d un patient atteint de paludisme a P ova/e Les hématies infectées sont ovales, et contiennent des tropho zoltes de P ovofe et des granulations de Schuffner *(barre = S µm) (Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

Toxoplasma gondii

Cette coccidie parasite a une distribution mondiale, et son hôte définitif est le chat Celui-ci excrète de façon persistante dans les fèces une grande quantité d'oocystes qui, après maturation peuvent infecter d autres espèces y compris 1 homme II existe deux forme de trophozoïtes les tachyzoïtes (428) à multiplication rapide, et les bradyzoïtes à multiplication lente qui constituent les kystes L'homme peut aussi s infecter par ingestion de viande peu cuite contenant des bradyzoïtes

L'infection est asymptomatique dans plus de 50 % des cas Lorsqu elle est symptomatique, son expression clinique est proche de celle de la mononucléose infectieuse, avec, rarement, une encephalomyélite Chez les patients immunodépnmés, le risque d encé-



428 Tachyzoïtes de ***Toxoplasma gondii.*** Microphotographie électronique d'une coupe mince *(barre = 5 µm)*



»w) **Toxoplasmose congénitale.** Radiographie du crâne d'un enfant atteint de toxoplasmose congénitale, avec calcification intracérébrale



•— Toxoplasmose congénitale. Enfant présentant une microcéphalie et un opistho-tonos dus à une toxoplasmose congénitale

phalomyelite est majeur *T gondii* est capable de passer la barrière placentaire et d'infecter le fœtus La principale conséquence est une chonorétmite entraînant la cécité On l'observe chez les nouveau-nés infectés *m utero* (jusqu'à 60 %), mais rarement lorsque 1 infection survient à la naissance Des atteintes cérébrales avec calcification **(429)** et microcéphalie **(430)** peuvent aussi se produire

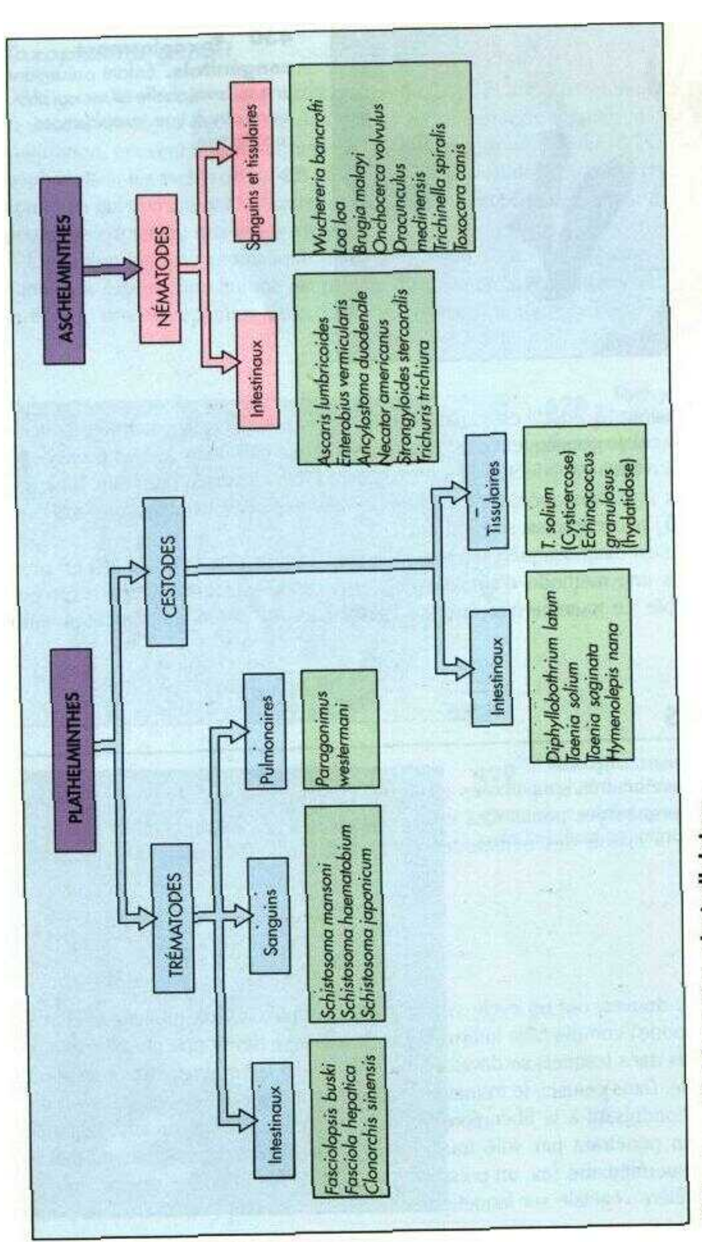
La toxoplasmose est diagnostiquée sérologiquement (élévation du titre des IgG ou présence d'IgM), mais une méthode d amplification enzymatique du génome par PCR est également disponible Le traitement repose sur 1 association de pynmethamine et de sulfadiazme

HELMINTHES

Les parasites multicellulaires sont divisés en deux embranchements, les Plathelminthes ou vers plats comprenant les trématodes et les cestodes, et les Aschelminthes (ou vers ronds, *NdT)* dont la classe des nématodes comprend plusieurs pathogènes humains

TRÉMATODES

Les trématodes, ou douves, ont un cycle vital complexe impliquant un mollusque (habituellement gastéropode) comme hôte intermédiaire L'adulte se développe chez l'homme, qui excrète les œufs dans lesquels se développe une larve La larve libre, ou miracidium,' infecte le mollusque Dans celui-ci le trématode passe par une série d'étapes (sporocyste puis redie, *NdT)* conduisant à la libération d'une autre larve appelée cercaire, laquelle infecte l'homme en pénétrant par voie transcutanée (ex schistosomes), par ingestion d'un second hôte intermédiaire (ex un poisson pour *Clonorchis smensis),* ou encore par ingestion d une matière végétale sur laquelle le cercaire est attaché (ex le cresson pour *Fasciola hepatica)*

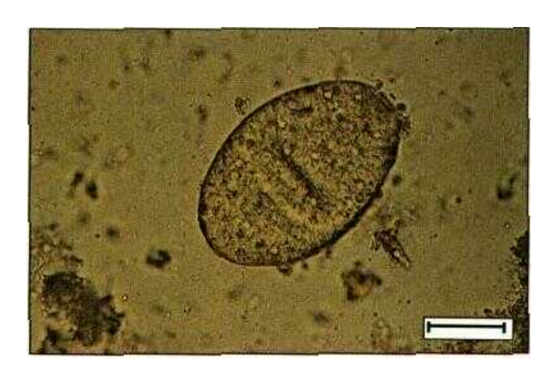


431 Parasites humains pluricellulaires.

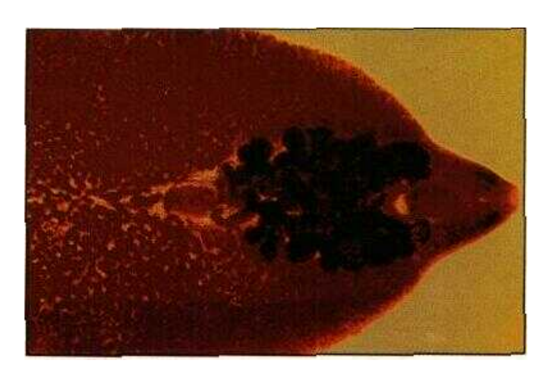
Douves intestinales

Fasciolopsis buski est une douve intestinale géante (de 2 à 7,5 cm) rencontrée en Extrême Orient L infection est transmise par ingestion de légumes d eau contamines (ex pousses de bambou marron d eau) Une lourde infestation (> 500 vers) entraîne des desordres de type malabsorption (selles pâteuses et jaunes) avec carence vitaminique et hypoalbuminemie La présence d œufs dans les selles permet le diagnostic (432) Le traitement est le praziquantel

Fasciola hepatica (433) est la douve du foie du mouton rencontrée en Europe en Amérique Latine et dans beaucoup d autres régions L infection est transmise a 1 homme par ingestion de cresson provenant de sites accessibles aux herbivores en particulier ovins Les metacercaires perforent la paroi duodenale sans passer par les voies biliaires pour atteindre le foie II s ensuit une infection souvent symptomatique fébrile avec frissons et cholangite La présence d œufs dans les selles permet le diagnostic Le traitement est le praziquantel



432 **CEuf de *Fasciolopsis buski.*** Coloration au lugol d'une préparation de selle entre lame et lamelle *(barre = 40 µm) (Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*



433 **Partie antérieure de *Fasciola hepatica.*** Partie antérieure d une douve du foie, *F hepatica (Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

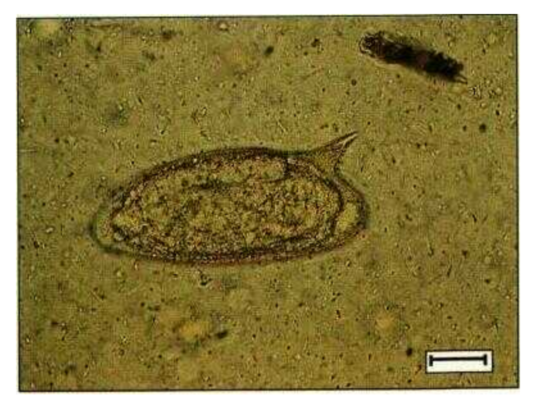
Schistosomes (bilharzies)

Schistosoma mansoni est un parasite présent en Afrique Arabie et Madagascar et l'on pense qu il a été transporte aux Antilles et en Amérique du Sud par le trafic des esclaves

Schistosomd japonicum se rencontre en Extrême Orient tandis que *Schistosoma hae matoblum* a diffuse a partir de la vallée du Nil a travers 1 Afrique a Chypre au Portugal et au Moyen Orient A 1 inverse des autres trematodes les schistosomes ne sont pas herma phrodites Les miracidiums sortent des œufs qui ont été excrètes dans les selles *(S man soni S Japonicum)* ou dans les urines *(S haematoblum)* et infectent des gastéropodes d eau douce dans lesquels ont lieu la reproduction et la libération des cercaires Ceux ci peuvent pénétrer la peau humaine intacte et passer dans la circulation Les adultes de 5 *mansoni* vivent dans les veines mesentenques inférieures (qui drainent la partie infe neure du colon) ceux de 5 *japonicum* dans les veines mesentenques supérieures (qui



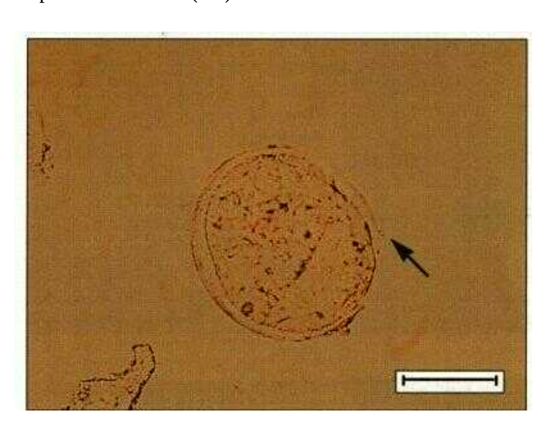
434 ***Schistosoma mansoni* dans une coupe de foie.** Coupe de foie montrant un mâle adulte (m) et une femelle adulte (f) accouples *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*



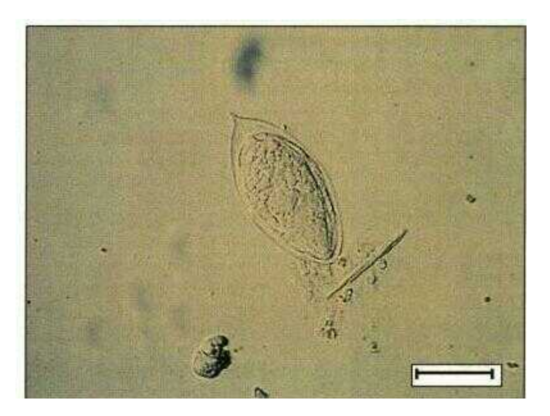
435 **Œuf de *Schistosoma mansoni.*** Coloration au lugol d une préparation de selle entre lame et lamelle montrant un œuf de S *mansoni* avec son éperon latéral bien démarque *(barre = 20 ym) (Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

drainent 1 intestin grêle) et ceux de 5 *haematoblum* dans les plexus vésicaux utérins et prostatiques Les adultes mâles et femelles (434) s accouplent et déposent leurs œufs *m situ Ces* derniers pénètrent dans 1 intestin ou la vessie et sont de là excrètes L affection resuite de I inflammation intense due a cette translocation De plus la pénétration des cercaires peut causer un rash cutané intense et fébrile (fièvre de Katayama) conduisant parfois a une myélite transverse L infection est transmise lors de baignades ou de barbotage dans des eaux peu profondes contenant les escargots hôtes

Les schistosomiases (ou bilharzioses *NdT)* sont diagnostiquées par la présence d œufs dans les selles les urines ou les tissus 5 *mansoni* produit des œufs ovoïdes (150 x 60 u.m) avec un éperon latéral près d un des pôles (435) 5 *japonicum* produit des œufs plus petits (60 x 50 u.m) avec un petit éperon latéral (436) et *S haematoblum* des œufs à éperon terminal (437)



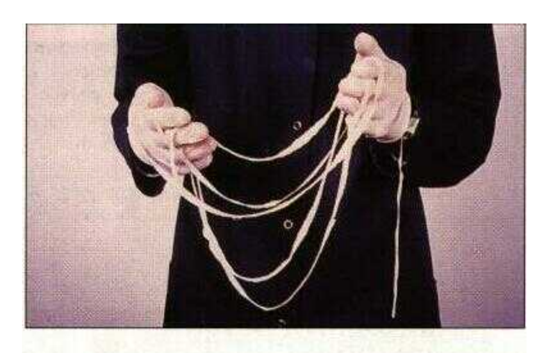
436 CEuf de *Schistosoma japonicum.* Coloration au lugol d une préparation de selle entre lame et lamelle montrant un œuf de S /oponicum avec son petit éperon (flèche) *(barre = 20 µm) (Copyright Liverpool School of Tropical Médiane]*



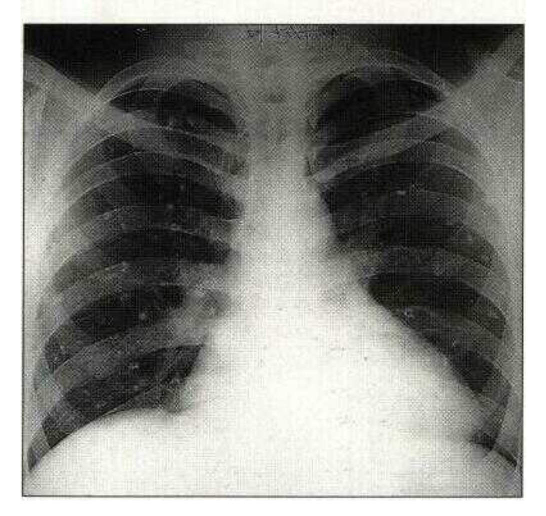
437 Œuf de *Schistosoma haematoblum.* Coloration au lugol d un échantillon d urines entre lame et lamelle montrant un œuf de 5 *haematoblum* avec son éperon terminal *(barre =* 50 *µm) (Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

CESTODES

Les cestodes ou vers solitaires sont acquis par ingestion de larves présentes dans les chairs insuffisamment cuites de poisson *(Diphyllobothnum latum)* de bœuf *(Taenia sagi nata)* ou de porc *(T solium)* Les ténias du porc et du bœuf peuvent atteindre 2 50 m de long (438) L infection nest en général remarquée qua 1 émission de segments dans les selles Les traitements de choix sont le niclosamide et le praziquantel Si des œufs de ténia arme (*T. sohum* excrètes dans les selles humaines) sont ingères les larves eclosent puis envahissent la paroi intestinale passent dans la circulation et vont se localiser dans différents tissus notamment les muscles le cœur le cerveau et la rétine Elles y produi sent des kystes provoquant la cysticercose La présence de ces kystes dans le cerveau peut entraîner un déficit neurologique focal des crises epileptiformes une hydrocéphalie



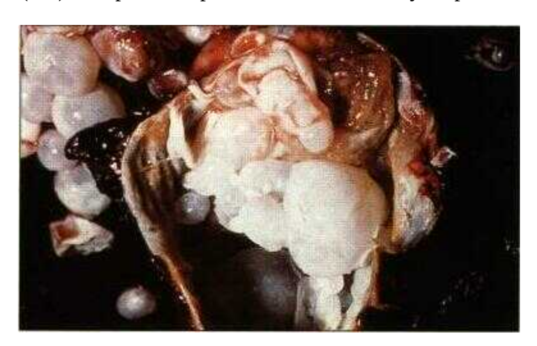
438 Ténia du bœuf. Ténia du bœuf enroule autour des mains de son hôte *(Copyright Lwerpool School* or *Tropical Médiane)*



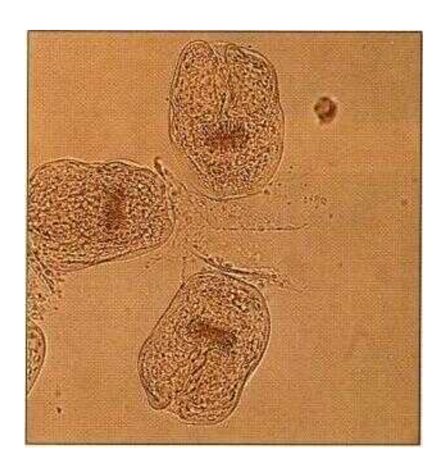
Radiographie pulmonaire montrant des kystes calcifiés. Cliché montrant de nombreux cysticerques calcifiés

ou une méningite chronique Le diagnostic est radiologique (439), ou nécessite de mettre en évidence les cysticerques dans les tissus Le traitement fait appel au praziquantel (à l'exception des localisations oculaires) en association avec la dexaméthasone pour diminuer 1 inflammation autour des kystes morts

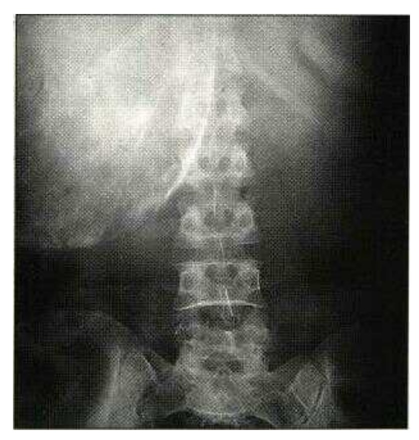
Le ténia du chien *(Echmococcus granulosus)* se rencontre particulièrement dans les régions d élevage ovin (ex Nouvelle Zelande Australie Balkans Amérique du Sud) Lingestion d œufs provoque 1 hydatidose chez 1 homme Les larves pénètrent la muqueuse intestinale et se logent principalement dans le foie et les poumons L embryon forme un kyste qui continue a grandir pouvant atteindre un volume de plusieurs litres **(440)** Le kyste contient des protoscolex des vésicules filles et des débris amorphes constituant le « sable hydatique » (441) La mise en évidence initiale des kystes est souvent radiologique (442) L aspiration précautionneuse du kyste permet 1 examen du sable hydatique (les



440 Poumon contenant plusieurs kystes hydatiques. *(Copyright Liverpool School* or *Tropical Medicinef*



441 Sable hydatique.



442 Hydatidose hépatique. Radio graphie montrant un gros kyste hydatique du foie

auteurs français déconseillent cette pratique, en raison du risque de dissémination et d'anaphylaxie, *NdT).* On dispose également d'un diagnostic sérologique. Le traitement fait appel à une exérèse chirurgicale et, en cas d'impossibilité, au mébendazole (non disponible en France, où l'on utilise l'albendazole, *NdT).*

NÉMATODES

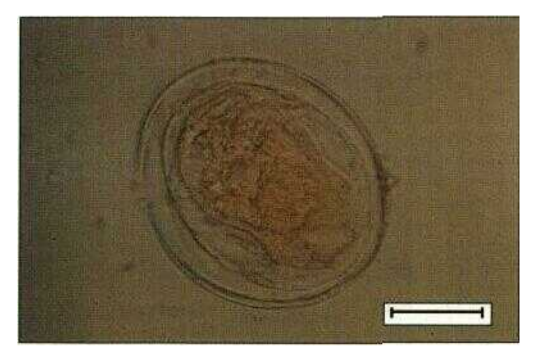
Les nématodes sont des vers ronds non segmentés, ayant pour la plupart un stade d'existence libre (c'est-à-dire qu'ils doivent, à l'exception des oxyures, passer par un stade de maturation dans le milieu extérieur, *NdT).*

Vers intestinaux

Ascaris lumbncoides (443) est un long ver intestinal (de 20 à 35 cm). L'infection fait suite à l'ingestion d'œufs embryonnés mûrs (444). Les œufs sont excrétés dans les selles (une estimation de 1947 indiquait que 18 000 tonnes d'œufs d'ascaris étaient émis chaque année en Chine). Ils éclosent dans le duodénum et les larves franchissent la paroi intesti-



443 *Ascaris lumbricoides* dans une veine rénale. Le ver rond est sorti de l'intestin au décours d'une plaie au couteau, et s'est logé dans une veine rénale.

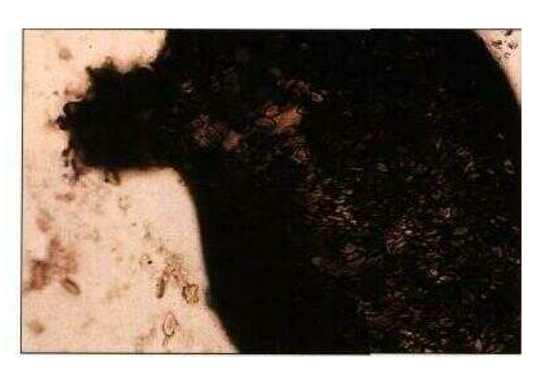


444 Œuf de *Ascaris lumbricoides* dans les selles. La larve est visible à l'intérieur de l'œuf. *(barre = 20 µm) (Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

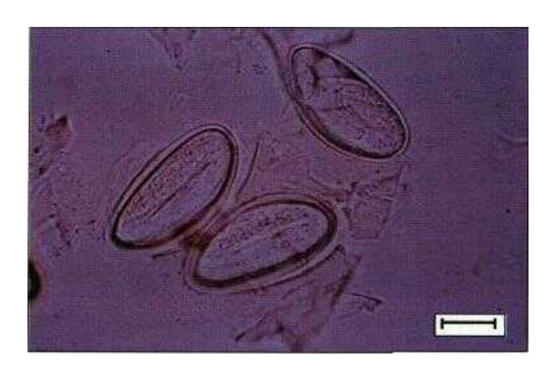
v

nale, passent dans la circulation veineuse ou lymphatique pour atteindre le foie. Elles rejoignent alors les alvéoles par la veine cave, franchissent celles-ci, et les jeunes adultes , montent jusqu'au pharynx, après un court séjour dans le poumon, puis gagnent l'intestin *via* l'œsophage C'est là qu'ils s'accouplent et libèrent leurs œufs (environ 200 000 par jour) L'infection est en général asymptomatique, sauf quand se produit une réaction de type asthmatique ou une fausse route pendant la phase migratoire, avec sortie du ver par la bouche ou le nez. Une infestation massive peut entraîner une occlusion intestinale ou un retard de croissance chez l'enfant L'ascaridiose a une distribution mondiale, notamment dans les régions d'hygiène précaire. La détection des œufs dans les selles permet le diagnostic (444) Lmfection peut être traitée au mébendazole (non disponible en France, où l'on utilise le flubendazole, *NdT)*

Enterobius vermicularis, l'oxyure, est fréquemment responsable d'infections chez l'enfant, partout dans le monde Le ver adulte réside dans le caecum et ses parties contiguës. Les femelles gravides (445) migrent vers la marge anale où elles déposent leurs œufs (446), provoquant une irritation intense, qui fait se gratter l'enfant; les œufs passent alors sur les doigts, et peuvent infecter d'autres enfants ou auto-infecter, si les doigts sont por-



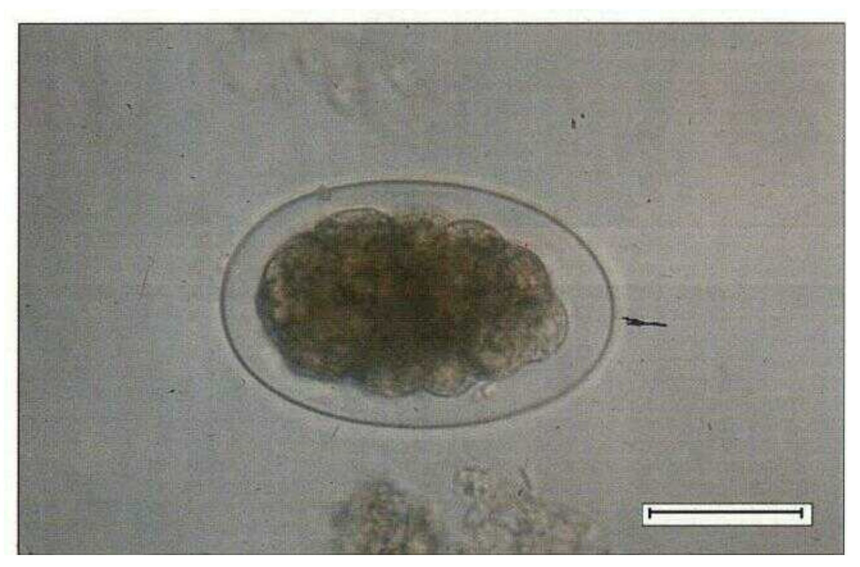
445 ***Enterobius vermicularis.*** Femelle gravide d'oxyure, remplie d'œufs.



446 Œufs de *Enterabius vermicularis.* *(barre = 20 ym}*

tés à la bouche. La présentation clinique varie selon l'intensité du prurit, mais l'infection interfère souvent avec le sommeil, les vers sortant la nuit Ils peuvent aussi migrer dans le vagin et provoquer une vulvo-vaginite Le diagnostic est réalisé à l'aide d'un « scotch-test » Un morceau de ruban adhésif est appliqué au matin sur la marge anale, et récolte des œufs II est ensuite collé sur une lame de microscope et examiné à l'objectif xlO, qui permet de voir clairement les œufs (446) Le flubendazole et le pamoate de pyrantel sont des traitements actifs Toute la famille doit être traitée

Les ankylostomes, *Ancylostoma duodenale* et *Necator amencanus,* infectent l'homme en pénétrant à travers la peau intacte, habituellement aux pieds Lhomme semble être l'hôte exclusif de A *duodenale,* mais les lapins, agneaux et veaux peuvent être expérimentalement infectés par *N amencanus A duodenale* existe en Europe, Amérique du Sud, Inde, Chine et dans les îles du Pacifique *N amencanus* se rencontre en Afrique subsaharienne et fut probablement importé aux Amériques par le trafic d'esclaves Les œufs d'ankylostomes (447) sont excrétés dans les selles, et éclosent de préférence dans des terrains sableux humides, donnant des larves rhabditoides Elles muent alors pour devenir infectieuses (larves strongyloides), et attendent qu une surface de peau humaine soit disponible Elles sont alors emportées aux poumons par la circulation sanguine, et traversent les alvéoles Les adultes empruntent le carrefour pharyngé et descendent jusque



447 CEuf de *Ancylostoma duodenale.* Œuf d'ankylostome dans un échantillon de selle *{barre = 20 µm)*

dans l'intestin grêle. Ils s'y fixent à l'aide de crochets et de plaques tranchantes La pénétration cutanée s'accompagne d'un prurit entramant parfois des lésions de grattage (gourme des mineurs, *NdT),* et l'entrée dans les poumons peut provoquer une pneumopathie asthmatiforme Une fois dans l'intestin, les vers peuvent occasionner des douleurs abdominales Le principal problème posé par une infestation massive persistante est celui de l'anémie par carence martiale sévère L'ankylostomiase est diagnostiquée sur la présence d'œufs dans les selles (447), et son traitement requiert du flubendazole

L'anguillulose (due à *Strongyloides stercoralis) a* une répartition géographique similaire à celle des ankylostomiases Chiens et chats peuvent aussi être infectés Dans des conditions d'environnement optimales (chaleur et humidité), les larves rhabditoides peuvent donner plusieurs générations Finalement, elles se transforment en larves strongyloides infectantes qui s'agrègent (448) et sont capables de pénétrer la peau humaine intacte La suite du cycle est identique à celle du cycle des ankylostomes, à la différence près que ce sont des larves rhabditoides plutôt que des œufs qui sont excrétés De plus, ces larves peuvent se transformer en formes strongyloides infectantes dans l'intestin même, créant un cycle d'auto-infection chez l'hôte L'infection peut ainsi persister pendant des décennies Pour exemple, un certain nombre de soldats britanniques ayant été retenus au Japon dans des camps de prisonniers, étaient encore infectés 50 ans après Certains patients



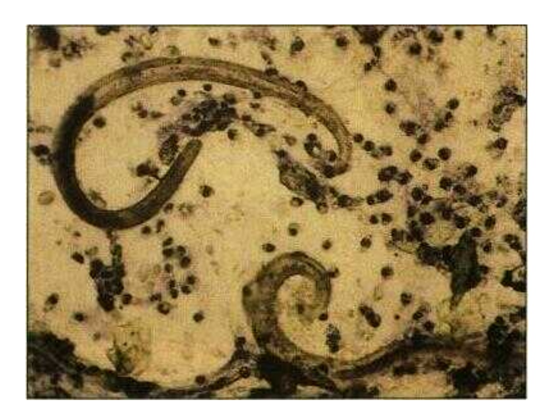
448 Larves d'anguillule. Larves filanformes infectantes de *Strongyloides stercoralis* au sol, prêtes à pénétrer la peau exposée d'un imprudent *(Copyright Dr R Ashford)*

peuvent développer des symptômes pulmonaires au moment du passage des vers dans les poumons, ou un syndrome de malabsorption en cas d'infestation intestinale massive À l'occasion, certaines larves peuvent perdre leur chemin et se déplacer sous la peau *(larva currens)* (449) Lors d'infestations massives, ou chez l'immunodépnmé, une anguillulose disséminée redoutable survient, avec la pénétration des vers dans le cœur, le foie, les poumons, les reins et le système nerveux central, souvent accompagnée d'une septicémie a bactéries à Gram négatif

Le diagnostic repose sur la présence de larves dans les selles (450), ou dans le liquide d'aspiration duodénale Des tests sérologiques sont disponibles dans des centres spécia-



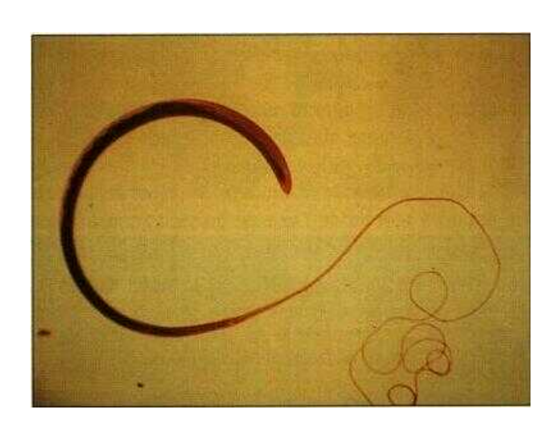
449 Larva currens. Patient atteint de *larva currens* due à S. *stercoralis. (Copyright Dr R. Ash-hrdi*



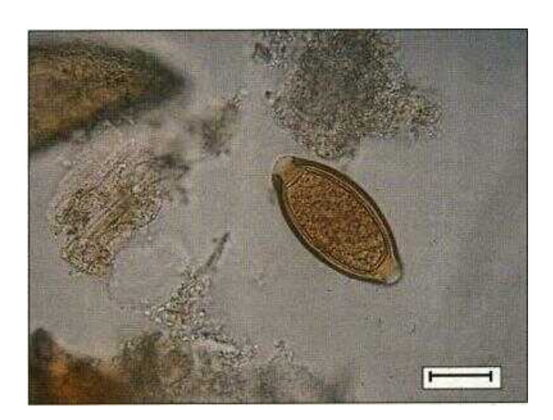
450 Larves d'anguillule. Larves rhabditoides de *Strongyloides stercoralis* dans un échantillon de selle. *(Copyright Dr C. Parryl*

lises Le thiabendazole est l'antiparasitaire de choix dans l'anguillulose, mais limité par ses effets indésirables et une efficacité incomplète

Tnchuns tnchiura, le tnchocéphale (451) connaît une distribution mondiale et s'acquiert par contamination oro-fecale L'infection est le plus souvent asymptomatique, mais parfois à 1 origine de ballonnements digestifs, de diarrhées muco-sanglantes de perte de poids, voire d'anémie si l'infestation est massive La présence d'œufs en forme caractéristique de tonneau (452) dans les selles permet le diagnostic Le traitement, si nécessaire, fait appel au flubendazole.



451 *Trichuris trichiura.* Ver tnchocéphale *(T tnchiura). (Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

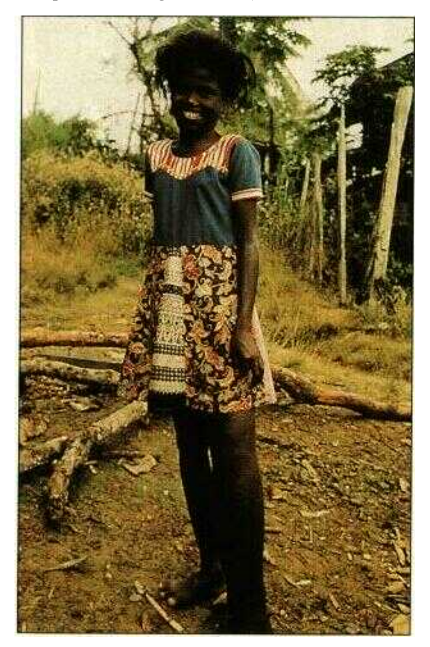


452 Œuf de *Trichuris trichiura.* Coloration au lugol d'une préparation de selle entre lame et lamelle *(barre = 20 ym}*

Nématodes du sang et des tissus

Les filaires *(Wucherena bancrofti, Loa loa, Onchocerca volvulus, Brugia malayi)* sont présentes dans les régions tropicales et subtropicales Toutes ont un insecte (moustique, taon, ou simulie) comme hôte intermédiaire et sont transmises à 1 homme lors d'un repas sanguin Elles sont responsables de blocage lymphatique entraînant un lymphœdème (453), de syndrome de *larva migrans* cutanée ou encore d atteinte oculaire, selon l'espèce

La filaire de Médine *(Dracunculus medinensis)* se rencontre en Afrique dans la vallée du Nil, et en Asie, du Moyen-Orient jusqu au Pakistan et au centre de l'Inde La femelle adulte peut mesurer 1,50 m (454), le mâle se contentant d'à peine 2 cm de long La femelle gravide se tient sous la peau 1 extrémité antérieure faisant surface en formant une phlyctene (455) Celle-ci éclate au contact de 1 eau tiède libérant un grand nombre de larves Ces dernières sont ingérées par un minuscule crustacé du genre *Cyclops*, dans lequel elles subissent une maturation Si le crustacé est ingéré par l'homme les larves traversent la paroi intestinale et migrent dans le tissu conjonctif profond où elles deviennent adultes et s'accouplent L'infection devient apparente quand la femelle gravide émerge (455) Le traitement repose sur 1 administration de mndazole (adjuvant a 1 extraction manuelle progressive de la filaire *NdT)* Leradication de la dracunculose est un objectif de l'OMS, qui peut être atteint par un contrôle correct de 1 eau de boisson (construction de puits a margelle, *NdT)*

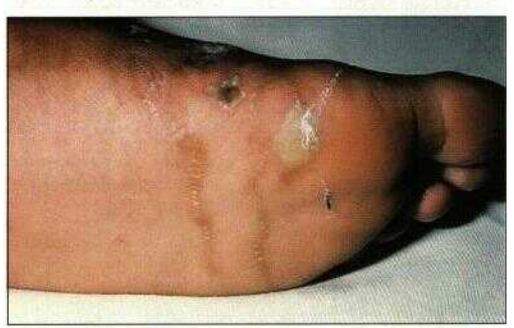


453 Éléphantiasis dû à la filaire *Loa loa.* Lymphœdème chez un enfant africain atteint de loase *(Copyright Liverpool School* or *Tropical Médiane)*

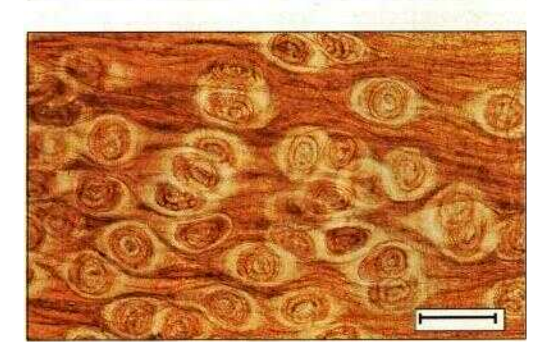
La trichinose, due à *Tnchinella spiralis,* est transmise à l'homme par la consommation de viande contaminée peu cuite de porc ou d'autres animaux Les vers mâles et femelles s'accouplent dans l'intestin pour donner des larves qui creusent la paroi jusqu'aux vaisseaux lymphatiques, et gagnent ainsi la circulation générale, elles traversent alors la gaine des muscles striés et s enkystent (456) L envahissement musculaire est caractérise par de



454 *Dracunculus medinensis.* Un |eune soudanais exhibe la filaire de Medine qui vient d'être extraite de sa |ambe



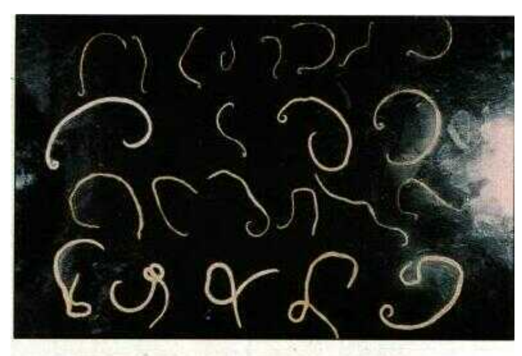
455 Phlyctene contenant les larves d'une filaire de Médine. Phlyctene due a *Dracunculus medinensis* sur le pied d'un enfant nigérian Cette ampoule est pleine de larves Le ver adulte est visible s'enroulant sous la peau autour de la plante du pied



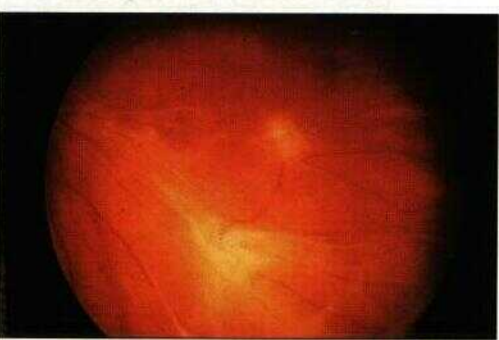
456 Larves de trichine *(Trichinella spiralis).* Coupe de muscle avec de très nombreuses larves de *T spiralis (barre = 10 um) (Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

la fièvre, une hyperéosinophilie, des douleurs et une fragilité musculaires, ainsi qu'un œdème péri-orbital pathognomonique. Elles peuvent aussi se loger dans le cerveau, provoquant une encéphalite. Le diagnostic est sérologique ou direct, par mise en évidence d'organismes enkystés dans le muscle. Le traitement vise d'abord à réduire l'inflammation (dexaméthasone) L'intérêt du thiabendazole ou des autres imidazolés n'est pas démontré.

Le syndrome de /a/va *migrans* viscérale des pays tempérés est principalement dû à *Toxocara* canis ou *T. cati.* Comme leur nom l'indique, les vers adultes sont présents dans l'intestin des chiens et des chats (457). Les œufs sont excrétés dans les fèces et mûrissent dans le milieu extérieur. L'homme (en particulier l'enfant) s'infecte par ingestion de fèces de chien ou de chat. Dans l'intestin, les œufs éclosent puis traversent la paroi intestinale pour envahir les viscères dans lesquelles ils s'enkystent. L'expression clinique est variable, allant de l'absence de symptôme à une hyperéosinophilie, avec ou sans hépatomégalie, ou une rétinite (458), voire à un envahissement pulmonaire et à la mort. Cette dernière éventualité est heureusement très rare. Le diagnostic est clinique. La sérologie et une laparoscopie peuvent être envisagées. Aucun traitement n'est habituellement prescrit. Si nécessaire, le thiabendazole peut être utilisé.



457 ***Toxocara canis.*** Vers adultes dans des excréments de chien. *(Copyright Dr R. Ashford)*



458 Rétinite due à *Toxocara canis.*

7. Insectes d'importance médicale et autres ectoparasites

Le phylum des arthropodes (du grec *arthron*, articulation, et pous, pied) comprend de très nombreux genres (plus de 800 000), dont la plupart sont inoffensifs pour l'homme. Les arthropodes d'importance médicale sont regroupés en six classes (459). Il est cependant plus utile de les séparer en agents directement responsables d'affections (460), et agents vecteurs d'autres maladies (461) On peut voir que certains arthropodes appartiennent à chacune de ces deux catégories.

Arthropodes d'intérêt médical	
Insectes (hexapodes)	Insectes vrais, avec une tête, un thorax et un abdomen. La seule classe d'arthropodes dont certains membres sont pourvus d'ailes.
Chélicérates	Possèdent un céphalothorax (fusion de la tête et du thorax) et un abdomen, mais pas de palpe ni d'antenne (ex. tiques, acariens, araignées, scorpions).
Myriapodes	
a. Chilipodes	Possèdent une tête et un thorax fusionné avec l'abdomen, aplati dans le sens dorso-ventral, et formé de nombreux segments similaires. Chaque segment est équipé d'une paire de pattes fonctionnelles. La première paire est modifiée pour former deux griffes venimeuses (ex. scolopendres).
b. Diplopodes	La tête porte les pièces buccales et les antennes. Le thorax-abdomen est cylindrique et formé de nombreux segments identiques, la plupart étant pourvus d'une paire de pattes. L'orifice génital antérieur distingue les chilipodes des diplopodes (ex. iules).
Crustacés	Possèdent une tête, un thorax et un abdomen, et se distinguent des autres arthropodes par la présence de deux paires d'antennes (ex. *Cyclops*).
Pentastomidae	Famille auparavant rangée chez les nématodes, mais dont les larves possèdent des appendices. Les pathogènes humains sont des parasites très spécialisés (ex. *Armillifer* et linguatule). [les *Pentastomidae* ont été récemment rattachés aux crustacés, *NdT*].

459 Arthropodes d'importance médicale.

AGENTS DIRECTEMENT RESPONSABLES D'AFFECTIONS

SANGSUES

Les sangsues terrestres se rencontrent en Inde, Asie du Sud-Est et certaines régions d'Océanie et d'Amérique du Sud. Les sangsues aquatiques ont une distribution mondiale. Ce sont des vers annelés possédant des pièces buccales chitineuses spécialisées, et qui sécrètent un anticoagulant, l'hirudine. Les sangsues terrestres ont de puissantes

Arthropodes et autres ectoparasites responsables d'affections par traumatisme, inoculation de venin ou réaction d'hypersensibilité	
Annélides	Sangsues terrestres (ex. *Haemadipsa*) Sangsues aquatiques (ex. *Limnatis*)
Insectes	Myiases cutanées ou des cavités (ex. asticot de *Cordylobia anthropophaga*) Puce-chique (*Tunga penetrans*) Poux (pou de pubis, *Phthirius pubis;* pou de tête ou de corps, *Pediculus capitis* ou *hominis*) Hyménoptères* (abeilles, guêpes, frelons, fourmis) Puces* (ex. *Pulex irritans*) Moustiques* (ex. *Aedes* et anophèles) Moucherons* (ex. *Culicoides*) Taons (ex. *Tabanus, Chrysops*) Punaises et réduves (ex. *Cimex, Triatoma* ou *Panstrongylus*)
Chélicérates	Araignées (ex. veuve noire, *Lactrodectus mactans; Atrax robustus*) Scorpions (ex. *Antroctonus crassicauda*) Tiques (ex. *Dermacentor andersoni*) Acariens (ex. *Sarcoptes scabiei;* acarien de la poussière de maison*, *Dermatophagoides pteronyssinus*)
Myriapodes	Chilipodes (ex. scolopendre) Diplopodes (ex. iules)
Pentastomidae	Lingatule
* Manifestations cliniques dues, en partie ou en totalité, à l'hypersensibilité.	

460 Affections dues à des arthropodes et autres ectoparasites, consécutives à des traumatismes, inoculations de venin ou réactions d'hypersensibilité.

mâchoires qui pénètrent la peau (462), alors que celles des sangsues aquatiques sont plus faible et se fixent plutôt sur les muqueuses.

Les sangsues peuvent entraîner d'importantes pertes de sang, et, si on les arrache, peuvent laisser leurs mâchoires dans la peau, entraînant des infections secondaires. On peut provoquer leur retrait par la chaleur (cigarette ou allumette allumées), une solution salée hypertonique, l'alcool ou le vinaigre. Les sangsues aquatiques ont encore des indications médicales, par exemple le drainage d'hématomes sous-cutanés. Bien qu'hématophages, les sangsues ne transmettent pas de maladies (on leur associe des infections à *Aeromonas hydrophila, NdT).*

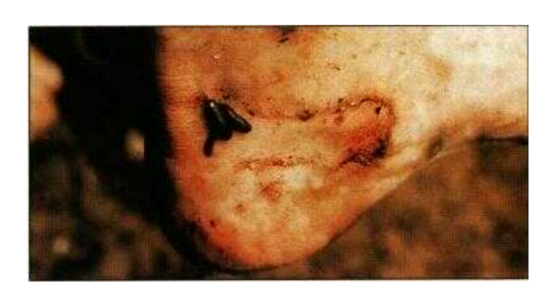
Arthropodes vecteurs d'infections

	Vecteur	Infection ou agent pathogène
Insectes	Phlébotomes	leishmanioses, fièvre d'Oroya (bartonellose), phlébovirus
	Moustiques *(Aedes, Anopheles, Culex)*	alphavirus, flavivirus, bunyavirus, paludisme, filarioses
	Simulies	onchocercose
	Taons *(Chrysops)*	loase
	Mouche tsé-tsé (glossine)	trypanosomiase africaine (maladie du sommeil)
	Mouches	diarrhées, trachome
	Poux *(Pediculus)*	typhus exanthématique, fièvre des tranchées, fièvre récurrente
	Punaises *(Cimex)*	hépatite B (?)
	Réduves	trypanosomiase américaine (maladie de Chagas)
	Puces	peste *(Yersinia pestis)*, typhus
Chélicérates	Tiques *(Ixodes, Ornithodoros)*	maladie de Lyme *(Borrelia burgdorferi)*, fièvres récurrentes *(B. hermsi, B. duttoni)*, rickettsies, alphavirus, flavivirus, bunyavirus, babésiose
	Acariens *(Trombiculidae)*	typhus des broussailles *(R. tsutsugamushi, NdT)*
Crustacés	*Cyclops*	filaire de Médine *(Dracunculus medinensis)* *Diphyllobothrium latum*
	Crabes et écrevisses	*Paragonimus westermani*

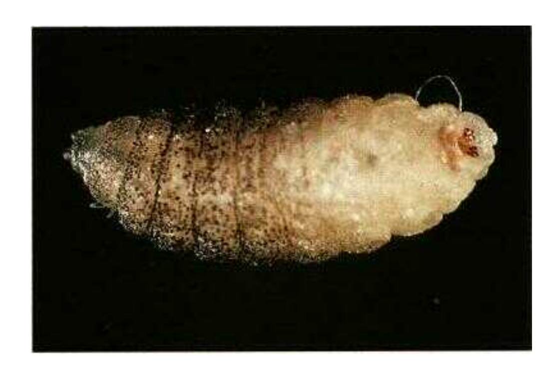
461 Arthropodes vecteurs d'infections.

MOUCHES (DIPTÈRES MUSCIDÉS)

Les myiases sont des affections dues au développement de larves de mouches qui envahissent les tissus et se transforment en asticots Elles peuvent être cutanées ou localisées dans différentes cavités Les larves de certaines mouches envahissent de façon opportuniste des lésions préexistantes (ex *Lucilla)* mais certaines peuvent traverser la peau saine La larve de



462 Sangsues terrestres. Papouasie Nouvelle Guinée *(Copyright Dr R Ashford)*



463 Asticot de *Cordylobia anthropophaga.* Le ver de Cayor *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*



464 Lésion de l'asticot de *Cordylobia anthropophaga.* Lésion Furonculeuse du ver de Cayor *(Copyright Liverpool School of Tropical Mediciné)*

Cordylobia anthropophaga (ou ver de Cayor *NdT)* (463) se développe à partir d œufs pondus dans les vêtements et envahit la peau en produisant une lésion ressemblant a un furoncle (464) en moins douloureux cependant Un examen attentif montre non pas du pus mais les stigmates respiratoires de 1 asticot Le retrait de ce dernier d une lésion mure peut être réalise en la recouvrant de vaseline ou d huile de paraffine (465) asphyxiant ainsi la larve qui émerge alors hors de son trou et peut être extirpée par une légère pression La prévention passe par le séchage du linge dans des endroits inaccessibles aux mouches et le repassage soigneux des coutures pour détruire les œufs D autres asticots comme ceux de *Dermatobia homims* (ver macaque *NdT)* ont des épines qui imposent parfois une exérèse chirurgicale Les myiases des cavités telles que les sinus et 1 oreille moyenne sont dues par exemple à *Chrysomyia bezziana* et causent plus de dégâts avec une mortalité significative Qusqu a 8 %) Certains asticots (ceux de la lucillie par exemple) ont été utilises a des fins thérapeutiques pour le debndement de plaies

PUCE-CHIQUE ET AUTRES PUCES

Les puces chiques *(Tunga penetrans)* sont des insectes fouisseurs qui provoquent des lésions douloureuses parfois invalidantes (466) Les adultes vivent a 1 état libre mais une



465 Emergence d'un asticot de *Cordylobia anthropophaga.* La même lésion traitée a la vaseline pour faire sortir 1 asticot *(Copyright bverpool School of Tropical Médiane)*

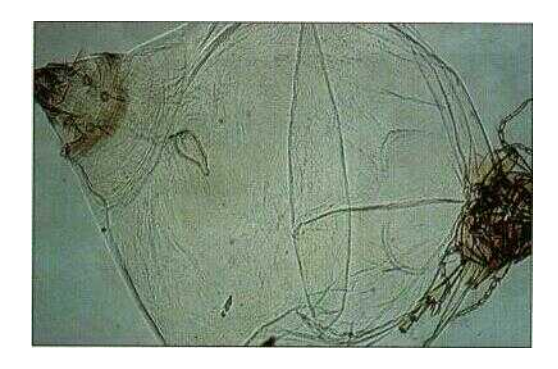


466 Lésion de *Tunga penetrans.* Exemple de (un gose Les lésions circulaires sont dues a 1 enfouissement de la puce chique *(T pénétrons) (Copyright Dr R Ashford)*

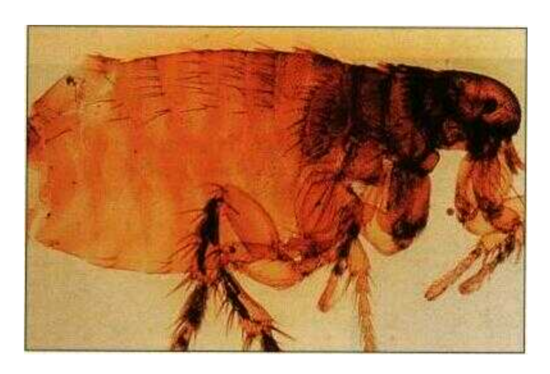
fois fécondée, la femelle se fixe à un hôte adéquat (volaille, cochon, homme, ou autres animaux) et pénètre dans les gerçures et crevasses de la peau. Elle s'y maintient solidement et grossit, atteignant souvent la taille d'un pois (467). Après 8 à 12 jours, le renflement devient irritant. L'inflammation sévère est suivie d'une ulcération et de l'expulsion d'un grand nombre d'œufs. Des surinfections peuvent suivre, en particulier le tétanos.

Le traitement consiste à retirer la chique, sans la perforer, avec une aiguille stérile, et à couvrir la lésion d'un pansement stérile et antiseptique. La prévention repose sur le port de chaussures appropriées, la puce sautant mal, et sur une politique de « terre brûlée ».

Les morsures des autres puces sont localement irritantes ou allergisantes. La puce humaine, Pu/ex *irritans*, se raréfie. Les morsures observées chez l'homme sont surtout le fait de puces du chat ou du chien *(Ctenocephalides felis* et C. can;s) (468). La puce du rat *(Xenopsylla cheopsis)* est le vecteur classique de la peste (due à *Yersinia pestis)* et du



467 **Femelle gravide de** ***Tunga penetrans.***



468 ***Ctenocephalides canis.*** La puce du chien.

typhus endémique (dû à *Rickettsia mooseri).* Elle peut aussi, avec d'autres, transmettre l'hyménolépiase (due au ténia nain *Hymenolepis nana),* par ingestion accidentelle. La résistance de ces insectes au DDT est croissante, mais le malathion semble plus actif.

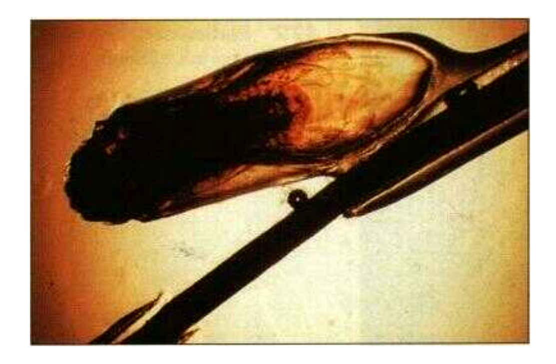
POUX '

Trois espèces infestent l'homme, *Phthirus pubis* (pou de pubis ou, vulgairement morpion), *Pediculus corporis* (pou de corps), et *Pediculus capitis* (pou de tête). En fait, ces deux derniers sont très similaires, ne différant que par quelques détails anatomiques mineurs, et sont souvent appelés *Pediculus humanus.*

Les poux de tête infectent les zones couvertes de cheveux (469). Les adultes parcourent le cuir chevelu. Ils se nourrissent en agrippant la peau avec une pièce buccale suceuse, l'haustellum, puis en la perforant à l'aide de deux stylets pour aspirer le sang. Après fécondation, la femelle cimente un œuf à la gaine du cheveu, laissant une lente caractéristique **(470).** Les lentes sont déposées au rythme de 7 à 10 par jour, et chaque



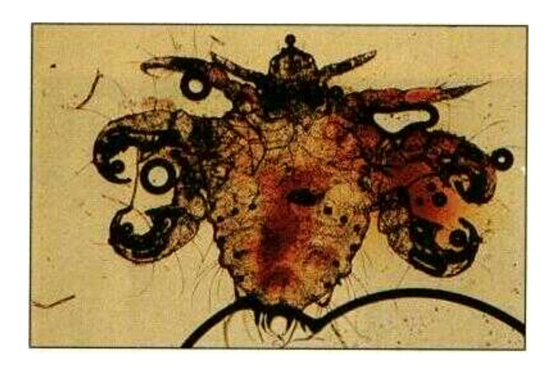
469 ***Pediculus capitis.*** **Le** pou de tête.



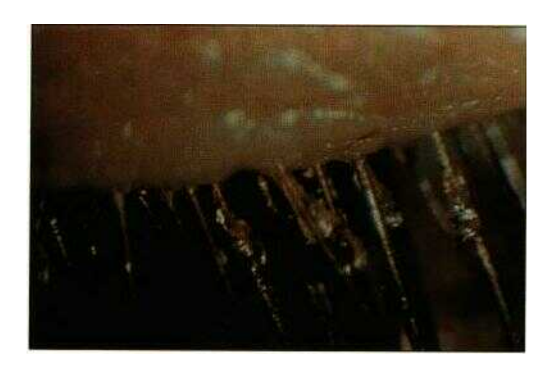
470 Éclosion d'une lente de pou. *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

femelle est active pendant environ un mois. La durée totale du cycle d'œuf à œuf est d'environ 16 jours La transmission du pou de tête se fait par contact rapproché, l'endémicité étant importante dans de nombreuses écoles Ces poux ne sont pas habituellement vecteurs de maladie, et peuvent être éradiqués par retrait des lentes à l'aide d'un peigne fin et utilisation d'un insecticide de type malathion II n est pas nécessaire de raser la tête

Les poux de corps sévissent dans des conditions de mauvaise hygiène Ils infestent les zones pileuses, mais préfèrent celles qui sont aussi recouvertes par les vêtements Leur distribution est mondiale, quoique tendant à prévaloir dans les régions relativement froides. Ils se transmettent par contact rapproché, et lors de partage de vêtements ou de literie. La femelle pond ses œufs sur les poils, mais plus fréquemment sur les fibres de



471 ***Phfhirus pubis.*** **Le** pou de pubis ou « morpion ».



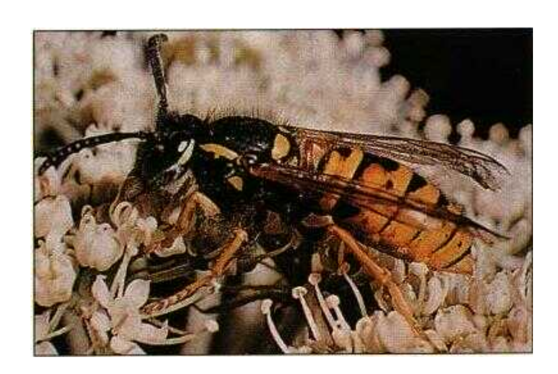
472 **Pédiculose.** L'infestation peut parfois atteindre les

tissu et la literie Le pou de corps est l'unique vecteur du typhus exanthématique (du à *Rickettsia prowazekii), des* fièvres récurrentes à *Borrelia recurrentis,* et de la fièvre des tranchées (due à *Bartonella quintana)* Le malathion est utilisé pour traiter l'infestation Les poux ne survivant pas plus de 10 jours sans repas sanguin humain, ils ne persistent pas dans les maisons Les lentes peuvent persister sur les vêtements jusqu'à un mois, et sont détruites par un chauffage de 30 minutes à 70 °C

Les poux de pubis (471) possèdent des pinces sur la deuxième et la troisième paire de pattes, permettant d'agripper les poils pubiens Ils sont plutôt léthargiques et se cantonnent habituellement à la région pubienne, bien qu'ils puissent infester la barbe, les sourcils et les cils (472) *Phthirus pubis* est encore sensible au DDT. Cependant, ce produit n'est pas actif sur les lentes, et on lui préfère le malathion

HYMÉNOPTÈRES

II existe plus de 4 000 espèces d'abeilles, guêpes et frelons, équipées d'un aiguillon Les dommages directs causés par celui-ci sont en général locaux (rougeur, douleur et œdème) et de courte durée Le venin est injecte à travers un aiguillon barbelé et contient diverses aminés vaso-actives (ex l'histamine), des enzymes (ex la phospholipase A), et des peptides toxiques Le décès peut survenir par anaphylaxie, en cas d'hypersensibilité au venin (0,5 % de la population) Les piqûres les plus fréquentes sont le fait de guêpes (473) et d'abeilles *(Apis mellilera)* Le traitement local consiste a retirer l'aiguillon (qui continue à délivrer le venin), et éventuellement à appliquer des antiseptiques locaux Le traitement du choc anaphylactique requiert de l'adrénaline par voie sous-cutanée (0,5 à 1 ml de solution à 0,5 %), le maintien des voies aériennes libres, et une hospitalisation urgente.



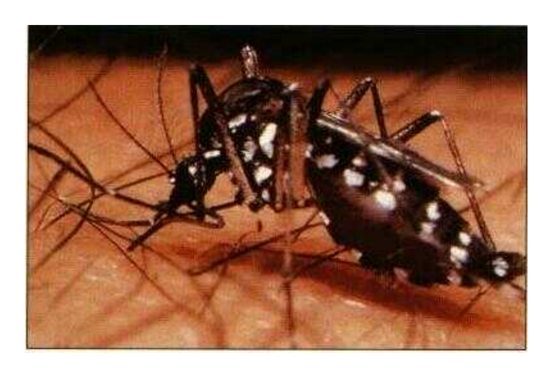
473 Une guêpe. *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

MOUSTIQUES

On dénombre au moins 35 genres de moustique Ils se rencontrent depuis le cercle polaire jusque bien en dessous de l'équateur Les adultes des deux sexes se nourrissent de nectar, et certains sucent aussi le sang d'une grande variété d'espèces animales, y compris les oiseaux L hypersensibilité a la salive du moustique est responsable de l'aspect de la piqûre De plus les femelles sont d importants vecteurs de maladies Les anophèles *(Anophèles)* (474) sont les vecteurs biologiques (c est-a-dire que l'agent infectieux se reproduit chez le moustique) du paludisme, de filanoses d infections à Alphavirus (encéphalite équine vénézuélienne) Flavivirus (encéphalite de St Louis), et Bunyavirus (Tahyna) Ils ne sont cependant pas le vecteur principal des trois derniers Les *Aèdes* (475) transmettent aussi des filanoses et sont les principaux vecteurs d'infections à Alphavirus (ex chikungunya), Flavivirus (ex dengue et fièvre)aune), et à quelques Bunyavirus (encéphalite californienne)



474 Moustique anophèle à la fin d'un repas sanguin. *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*



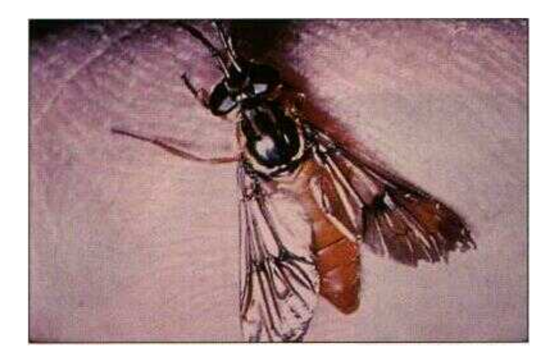
475 *Aèdes aegypti* au cours d'un repas sanguin. *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

TAONS (DIPTERES TABANIDES)

Cette famille comprend plusieurs espèces parmi lesquelles on trouve les plus grands insectes hématophages volants, avec une envergure atteignant 6 cm Leur morsure est très incommodante Seules les femelles mordent, et peuvent prendre d'importants repas sanguins (20 à 200 mg) De plus, les taons du genre *Chrysops* **(476)** sont les vecteurs biologiques de la loase (due a Loa *loa)* D'autres tabanidés pourraient être les vecteurs mécaniques d infections telles que le charbon, la tularémie, et peut-être la maladie de Lyme

PUNAISES

Les punaises ont une distribution mondiale Les principaux parasites de l'homme sont *Cimex lectuJanus* (477) et C *hemipterus* (surtout sous les tropiques) Les femelles pondent jusqu'à 100 œufs dans leur vie Ils sont déposés dans les fissures des murs, sous les



475 ***Chrysops dimidiata.*** Une mouche **des rivières.** ***(Copyright*** *Liverpool* ***School of Tropical*** *Médiane)*



477 ***Cimex lectularius.*** Une punaise des lits

tableaux et les papiers peints, et dans les lits et les matelas. La morsure est irritante, et les punaises pourraient transmettre l'hépatite B.

ARAIGNÉES

II existe de nombreux genres d'araignée, dont la plupart sont inoffensifs. Les grosses araignées poilues sont en général inoffensives, alors que des espèces relativement petites et d'apparence insignifiante sont les plus venimeuses.

Les venins sont habituellement nécrosants ou neurotoxiques. La veuve noire *(Lactrodectus mactans)* (478) produit une puissante neurotoxine et fut à l'origine de 63 décès aux États-Unis sur une période de 10 ans dans les années 50. *Atrax robustus* fait partie des araignées à toile en entonnoir, et se rencontre en Australie, à Sydney et dans les alentours.



475 ***Lactrodectus mactans.*** Araignée veuve noire *{Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*



479 Un scorpion. *(Copyright Liverpool School of Tropical Medicine)*

SCORPIONS

Les scorpions **(479)** sont largement répandus dans les régions tropicales et subtropicales. Ils inoculent leur venin par un aiguillon incurvé, situé à l'extrémité de la queue. À la suite de piqûres, la mortalité peut atteindre 55%, spécialement chez les jeunes enfants Au Mexique, l'incidence annuelle observée est de 84 décès pour 100 000 habitants dans l'État de Colima Le venin est neurotoxique et localement nécrotique.

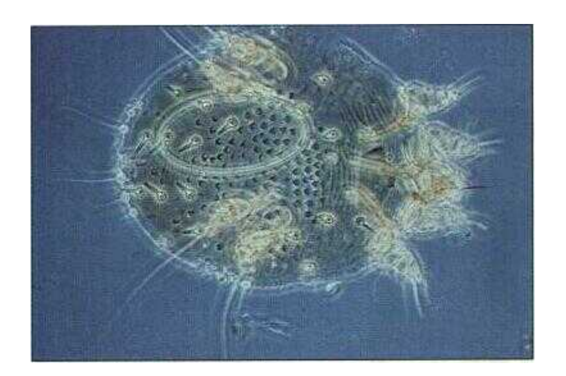
ACARIENS

Les acariens regroupent plus de 30 000 espèces. Bien qu'il en existe plus de 200 familles, seuls quelques-uns affectent l'homme. *Sarcoptes scabiei* est l'agent de la gale (480), et se rencontre partout dans le monde. Son incidence augmente nettement en temps de guerre,

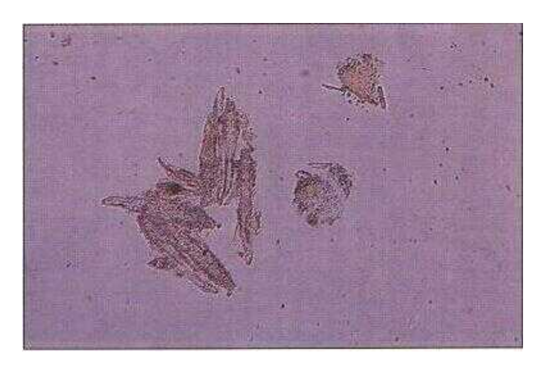


480 Gale génitale. Chaque lésion est ' une galerie contenant un sarcopte.

de famine Ou autres catastrophes La transmission est interhumame par contact étroit dans les familles et peut aussi survenir lors de rapports sexuels On estime que dans l'armée britannique au cours de la Deuxième guerre mondiale jusqu a 6 000 nouveaux cas étaient diagnostiques par mois Le sarcopte adulte (481) a la forme d un petit disque aplati (250-350 u.m) avec huit courtes pattes trapues La femelle gravide creuse une galerie dans la peau de quelques millimètres a centimètres de long (jamais en dessous de la couche cornée) Les sites préférentiels sont ceux ou la peau est fine ou ridée par exemple au poignet a la surface extérieure du coude sous les aisselles au pénis au scrotum et sous les seins Au fur et a mesure qu elle creuse elle dépose 20 a 30 œufs qui éclosent en 4 a 5 jours Dans les galeries les larves muent en nymphes puis a nouveau pour donner les adultes Le cycle complet d œuf a œuf dure 2 a 3 semaines Le traitement de toute la famille est a base de benzoate de benzyl ou de lindane La gale n étant transmissible que par contact étroit, il n est absolument pas nécessaire de desinfecter la literie



481 *Sarcoptes* ***scabiei.*** Acanen responsable **de la gale** *(Copyright Liverpool* ***School of*** *Tropical Médiane)*



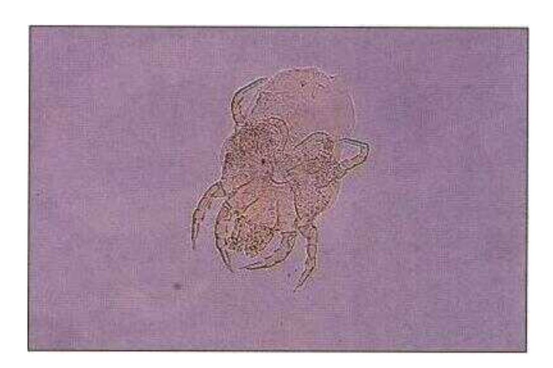
482 ***Demodex folliculorum.*** Acanen des follicules pileux

Demodex folliculorum (482) n'est responsable d'aucun trouble, à 1 exception peut-être de névrose C'est un résident normal des follicules cutanés des paupières, du nez et du visage

Dermatophagoides pteronyssmus acanen de la poussière de maison (483) se nourrit comme son nom I indique de peau desquamee II peut former des populations très importantes dans les oreillers les matelas et les canapés Ses déjections sont un puissant allergene responsables d asthme et de rhimtes allergiques On peut le contrôler en traitant les sites infestes par des insecticides et en nettoyant régulièrement avec un aspirateur

MYRIAPODES

Les mille pattes de type scolopendre (484) ont aussi une distribution géographique mondiale mais seules les grandes variétés tropicales et subtropicales peuvent infliger des morsures dangereuses Le venin qui est inocule par des pinces dérivées de la première paire de pattes produit des lésions nécrosantes



483 Acarien de poussière de maison. *Dermatophagoides pteronyssinus*

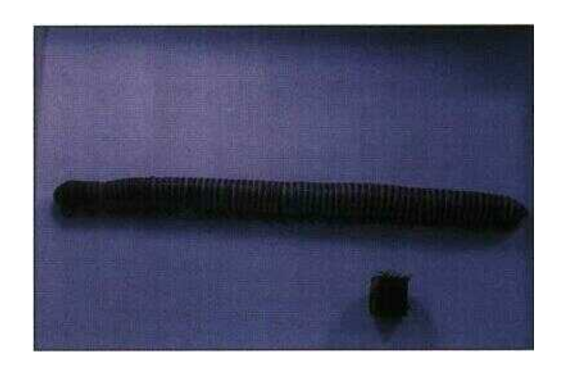


484 Un mille-pattes de type scolopendre. Mynapode du genre *Scolopendra*

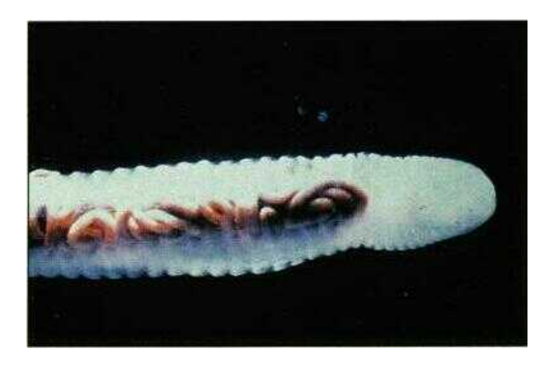
Les mille-pattes de type iule (485) se distinguent des scolopendres par leur corps cylindrique et un nombre bien plus élevé de segments et de pattes Ils sécrètent ou éjectent avec force un liquide toxique provenant de glandes spécialisées, très irritant pour la peau, la conjonctive et les autres muqueuses

LINGUATULES (PENTASTOMIDAE)

Ce groupe (aujourd hui rattache aux crustacés *NdT)* comprend deux genres, *Linguatula* (486) et *Armillifer* (487) L adulte de *Linguatula* vit dans les voies nasales du chien du loup et du renard L homme peut s infecter par ingestion d œufs (liguatulose viscérale) ou de larves Dans ce dernier cas les larves s installent dans les voies nasales produisant un syndrome nasopharynge appelé haizoum avec enrouement, dysphagie dyspnée et



485 Un mille-pattes de type iule.



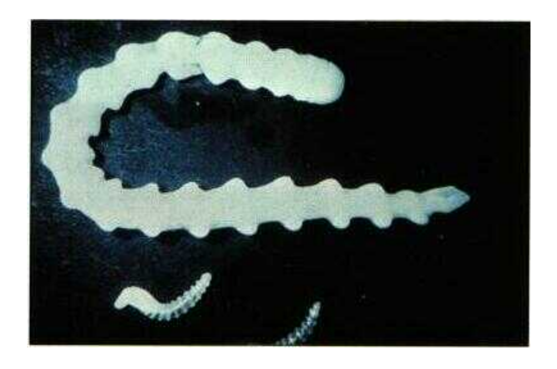
486 *Linguatula serrata.* Linguatule *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

vomissements *Annilliler* est transmis par ingestion de viande crue de python ou d'autres serpents ou par de l'eau de boisson contaminée par ces animaux L'infection est le plus souvent asymptomatique, mais peut endommager le foie (488)

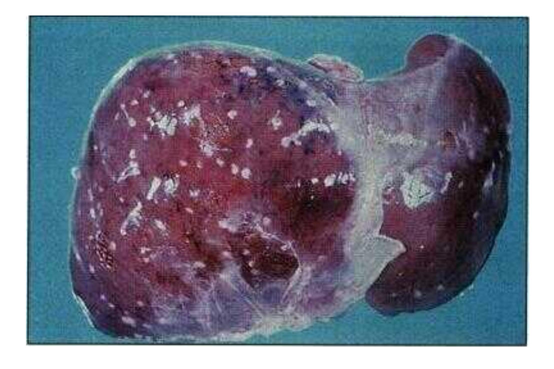
VECTEURS DE MALADIES

PHLEBOTOMES

Les phlebotomes appartiennent au genre *Phlebotomus* (489) dans 1 Ancien Monde et au genre *Lutzomyia* dans le Nouveau Monde Seules les femelles sont hematophages Leur morsure peut provoquer un urticaire reactionnel mais leur rôle le plus important est celui de vecteur des leishmamoses cutanées et viscérales de la fièvre d Oroya (dans les



487 ***Armillifer armillatus.*** *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

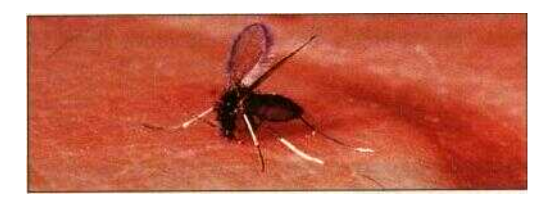


488 Granulome et calcifications hépatiques dus à *Armillifer armillatus.* *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*

Andes) et d'infections à Phlébovirus (fièvre à pappataci). Les mouches adultes sont de petite taille et difficiles à détecter. Elles sont surtout actives la nuit.

SIMULIES

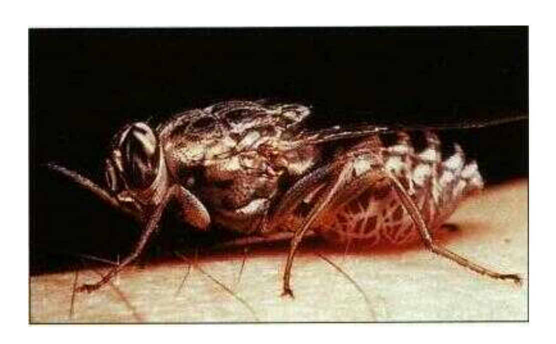
Ce sont les femelles du genre *Simulium* (490) qui sont hématophages. Elles transmettent la filaire parasite *Onchocerca volvulus,* agent de l'onchocercose, à la fois en Afrique et en Amérique Latine.



489 phlébotome *(Phlebotomus papatasi)* lors d'un repas sanguin. *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*



490 simulie *(Simulwm damnosum)* lors d'un repas sanguin. *(Copyright Liverpool School of Tropical Medicinei*



491 Mouche tsé-tsé *(Glossina morsitans).* *(Copyright Liverpool School **of** Tropical Medicine)*

MOUCHE TSÉ-TSÉ

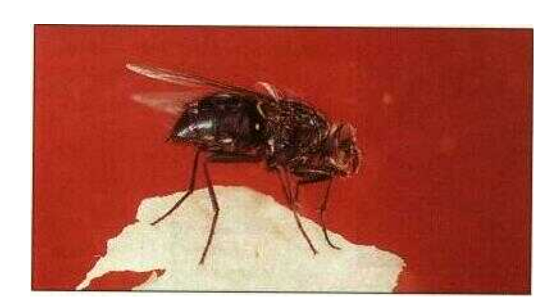
Les glossines *(Glossina)* (491) sont confinées à l'Afrique tropicale. Elles sont attirées par les couleurs sombres et les odeurs fortes. Leur morsure est douloureuse, mais elles sont surtout vectrices de la maladie du sommeil (due à *Trypanosoma bmcei).*

MOUCHE BLEUE

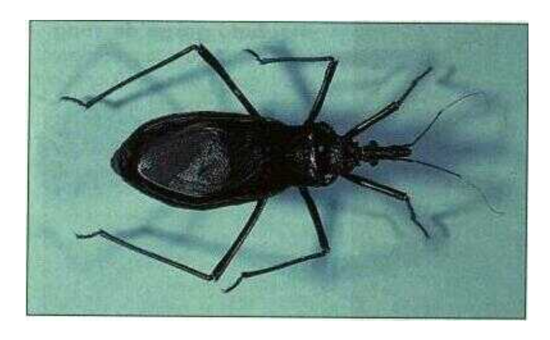
Les mouches bleues (492) et les mouches domestiques peuvent être les vecteurs mécaniques de germes responsables de diarrhées, et de *Chiamydia trachomatis,* agent du trachome.

PUNAISES

Les réduves (493) défèquent sur la peau au moment de la morsure et libèrent ainsi *Trypanosoma cruzi,* qui peut entrer dans la plaie à la faveur du grattage. Il en résulte localement un chagonne accompagné du signe de Romana, puis la maladie de Chagas (trypanosomiase sud-américaine).



492 Mouche bleue *(Calliphora)* s'alimentant. *(Copyright Liverpool **School of** Tropical Medicine)*



493 Réduve *(Triatoma dimidiata).* *(Copyright Liverpool School of Tropical Medicine)*

TIQUES

Toutes les tiques sont des parasites obligatoirement hématophages **(494** et **495).** Il en existe schématiquement deux formes : les tiques du type *Argas, à* téguments mous, et celles du type *Ixodes, à* téguments rigides. Ces dernières se nourrissent lentement et restent attachées pendant plusieurs jours, alors que les tiques molles se nourrissent plus vite, souvent du jour au lendemain La plupart s'alimentent sur des animaux, domestiques ou non, et seulement de façon fortuite sur l'homme. La tique molle d'Afrique tropicale *(Ornithodorus moubata)* est la seule à être adaptée à l'homme et à la volaille. Les tiques molles transmettent à l'homme les agents de certaines fièvres récurrentes *(Borrelia duttoni, B. hermsii, B. persica),* en Afrique, Asie, Amérique, et Europe méditerranéenne. Les tiques dures transmettent la maladie de Lyme *(B. burgdorferi),* certaines nckettsioses (fièvre boutonneuse méditerranéenne, fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses), la babésiose, des infections à Flavivirus (fièvres de la forêt de Kyasanur et fièvre hémorragique d'Omsk), et à Bunyavirus (fièvre hémorragique de Crimée-Congo).



494 Tique molle *(Ornithodorus moubata)* sur le point de s'alimenter. *(Copyright Liverpool School of Tropical Médiane)*



495 *Ornithodorus moubata* gorgé de sang. Même individu que précédemment, gorgé de sang *(Copyright iiverpool School of Tropical Medidnel*

Appendices

Infections du système nerveux			
	Principales infections	Autres infections	Tropicales ou limitées à certaines régions
Encéphalo-myélites	Entérovirus (dont le virus de la poliomyélite), Herpèsvirus humains (HHV) 1 et 2, Virus de l'immunodéficience humaine (VIH) Virus des oreillons	HHV-3 *, 4 * et 5, Influenza A et B *, Virus de la chorioméningite lymphocytaire, Virus de la rougeole *, Virus de la rubéole **, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Cryptococcus neoformans*, *Naegleria fowleri*, *Toxoplasma gondii*	Bunyavirus, Virus de la rage, Togavirus, *Borrelia recurrentis*, *Brucella*, *Rickettsia*, *Trophyrema whippelii*, *Histoplasma capsulatum*, *Plasmodium falciparum*
Méningites aiguës			
a) Nouveau-né	HHV-1 et 2 Entérovirus, *Escherichia coli*, Streptocoque du groupe B, *Listeria monocytogenes*	*Enterobacter* *Haemophilus influenzae* (b), *Klebsiella*, *Neisseria meningitidis*, *Salmonella*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida albicans*	
b) Enfant et adulte	Entérovirus, Oreillons, *H. influenzae* (b), *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*	Adénovirus, VIH, HHV-2, Virus de la chorioméningite lymphocytaire, Virus de la rougeole, *Borrelia burgdorferi*, Entérobactéries, *Leptospira*, *Listeria monocytogenes*, *M. tuberculosis*, *Treponema pallidum*	Togavirus
Méningites chroniques	*M. tuberculosis* *Cryptococcus neoformans*	*Borrelia burgdorferi*, *Brucella*, *Leptospira*, *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *T. pallidum*, *C. albicans*	*Francisella tularensis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*

(suite page 300)

Appendice 1 Infections du système nerveux.

Infections du système nerveux *(suite)*			
	Principales infections	Autres infections	Tropicales ou limitées à certaines régions
Abcès cérébraux			
Propagation locale			
à partir des muqueuses	Polymicrobiennes : anaérobies, *Streptococcus*, entérobactéries	—	—
traumatiques ou chirurgicales	Mono- ou polymicrobiennes : *Staphylococcus aureus*, entérobactéries *Pseudomonas*	—	—
à partir d'une méningite	*H. influenzae* (b), *L. monocytogenes*, *Citrobacter diversus*	—	—
***Diffusion* bactériémique**	*Entérobactéries*, *Salmonella*, *S. aureus*, streptocoques α-hémolytiques non groupables, *Candida* et *Aspergillus*	*Burkholderia pseudomallei*	—
Moelle épinière et système nerveux périphérique			
Toxines	*Clostridium botulinum*, *C. tetani*, *Corynebacterium diphteriae*	—	—
Infections			
a) médullaires	Poliovirus 1, 2, 3 *Treponema pallidum*	Entérovirus (70, 71), Coxsackie A, B, *Borrelia burgdorferi*, *Brucella*	*Schistosoma*
b) SN périphérique	Varicella zoster virus (HHV-3)	—	*Mycobacterium leprae*
Complications post-infectieuses ou vaccinales			
Guillain-Barré	Virus Epstein-Barr, Cytomégalovirus (HHV-4 et 5), VIH, Virus de la rubéole	*Borrelia burgdorferi*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella typhi*	HTLV-1 *Trophyrema whippelii*

* Encéphalomyélite infectieuse ou post-infectieuse.
** Post-infectieuses ou post-vaccinales exclusivement.

Appendice 1 Infections du système nerveux ***(suite).***

Infections ORL	
Bouche	
Caries	*Streptococcus mutans*
Gingivites	HHV-1
	Spirochètes et *Prevotella intermedia* (gingivite ulcéronécrosante aiguë)
Périodontites	Spirochètes, *Porphyromonas gingivalis, Actinobacillus actinomycetemcomitans*
Muguet	*Candida albicans*
Abcès dentaires	Polymicrobiens, anaérobies
Rhinites	Adénovirus, Coronavirus, virus de la grippe, virus Parainfluenza, virus respiratoire syncytial, Rhinovirus.
Amygdales et pharynx	Adénovirus, Coronavirus, Entérovirus, HHV-4, virus de la grippe, Parainfluenza, virus respiratoire syncytial (VRS), *Arcanobacterium haemolyticum, Chlamydia pneumoniae, Corynebacterium diphteriae, C. ulcerans, Mycoplasma pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae, Streptococcus pyogenes* (groupe A), *C. albicans*
Angine de Vincent	*Bacteroides, Fusobacterium*
Abcès périamygdalien	*S. pyogenes*, anaérobies
Angine de Ludwig	Polymicrobienne, peptostreptocoque, *Bacteroides, Fusobacterium*
Abcès rétropharyngé	Polymicrobiens, anaérobies, staphylocoques, streptocoques
Sinus et oreille moyenne	
Otite moyenne aiguë	Virus respiratoires
	Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, S. pyogenes
Infections chroniques	Anaérobies, entérobactéries, *Pseudomonas*
Structures paraméningées	
Abcès sous- ou épiduraux	Polymicrobiens, anaérobies, entérobactéries, *Pseudomonas, S. aureus*, streptocoques.

Appendice 2 Infections ORL.

Infections respiratoires	
Laryngo-trachéo-bronchite	Adénovirus, Entérovirus, virus de la grippe, virus Parainfluenza, virus respiratoire syncytial (VRS), Rhinovirus. *Haemophilus influenza* (infection secondaire), *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae*
Papillome laryngé	Papillomavirus humain
Épiglottite	*H. influenzae* (b), (*S. pneumoniae, S. aureus* : rare)
Bronchiolite	VRS, Adénovirus 7
Coqueluche	*Bordetella pertussis, B. parapertussis*, Adénovirus
Pneumopathies infectieuses communautaires	Adénovirus, virus de la grippe, virus de la rougeole, virus Parainfluenza, VRS, *Chlamydia pneumoniae, C. psittaci, Fusobacterium necrophorum, H. influenzae, Legionella pneumophila, Moraxella catarrhalis, Mycobacterium tuberculosis, Mycoplasma pneumoniae, S. aureus, S. pneumoniae et autres anaérobies* (aspiration). Sous les tropiques : *Bacillus anthracis, Francisella tularensis, Yersinia pestis*
Pneumopathies infectieuses de l'immunodéprimé	HHV-1, HHV-3, HHV-5, rougeole. Entérobactéries, *H. influenzae, L. pneumophila, Mycobacterium avium/intracellulare, M. tuberculosis, Nocardia, Pseudomonas, S. aureus, S. pneumoniae, Aspergillus, Cryptococcus neoformans, Mucor, Pneumocystis carinii, Strongyloides stercoralis, Toxoplasma gondii*
Bronchectasies et bronchopathies chroniques obstructives	*Burkholderia cepacia* (mucoviscidose), *H. influenzae, Pseudomonas aeruginosa, S. aureus, Stenotrophomonas maltophilia, S. pneumoniae, Aspergillus, Candida*
Abcès pulmonaire **Empyème**	*Klebsiella pneumoniae*, anaérobies (ex. *Fusobacterium necrophorum*), *S. aureus, Streptococcus milleri, S. pneumoniae* *Entamoeba histolytica*

Appendice 3 Infections respiratoires.

Exanthèmes	
Érythémateux maculo-papuleux	Entérovirus, HHV-4 (mononucléose infectieuse), HHV-6 et 7 (exanthème subit, 4e maladie), VRS, rougeole, Parvovirus (mégalérythème épidémique, 5e maladie), rubéole. *Neisseria meningitidis* (septicémie), *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* (syndrome du choc toxique), *Streptococcus pyogenes* (scarlatine), *Treponema pallidum* (syphilis secondaire)
Purpuriques, pétéchiaux	Arbovirus, Adénovirus, Entérovirus, rougeole (immunodéprimés) *N. meningitidis* Septicémies à autres bacilles à Gram négatif *Rickettsia*
Hémorragiques	Alphavirus, Arénavirus, Filovirus, Hantavirus, Nairovirus, Phlébovirus, Togavirus *Rickettsia*, *N. meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*
Vésiculeux/pustuleux	Entérovirus (syndrome pied-main-bouche), HHV-1 (bouton de fièvre), HHV-2 (herpès génital), HHV-3 (varicelle et zona), *S. aureus*, *S. pyogenes* (impétigo)
Nodulaires	
Multiples	Virus du molluscum contagiosum, monkeypox, Papillomavirus (verrues)
Habituellement isolés	Orthopoxvirus (cowpox, tanapox), Parapoxvirus (Orf)
Sarcome de Kaposi	Virus associé au sarcome de Kaposi (HHV-8)

Appendice 4 Exanthèmes.

Infections gastro-intestinales			
	Principales infections	Autres infections	Tropicales ou limitées à certaines régions
Gastrite	*Helicobacter pylori*		
Ulcère gastrique	*Helicobacter pylori*		
Hépatites	Hépatite A, Hépatite B, Hépatite C, Hépatite D	HHV-4, HHV-5 Rubéole (congénitale) *Brucella* *Leptospira* *Mycobacterium tuberculosis* *Treponema pallidum* *Yersinia enterocolitica*	Hépatite E Fièvre jaune *Histoplasma capsulatum* *Entamoeba histolytica* *Schistosoma mansoni*
Vomissements	Agent de Norwalk *Bacillus cereus* (toxine) *Staphylococcus aureus* (toxine)		—
Diarrhées Non-inflammatoires	Adénovirus 40/41, Astrovirus, Calicivirus Agent de Norwalk, Rotavirus. *Aeromonas*, *Campylobacter*, *E. coli* entérotoxinogènes *Salmonella*, *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*	Coronavirus, Pestivirus, VRS, Torovirus. *B. cereus*, *Clostridium perfringens* (intoxication alimentaire), *E. coli* entéropathogènes *Plesiomonas*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Blastocystis hominis*, *Enterocytozoon bieneusi* (au cours du SIDA), *Isospora belli*	*Trophyrema whippelii* *Vibrio cholerae* *Cyclospora cayetanensis*
Inflammatoires	*Aeromonas*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *E. coli* entéro-agrégants, *E. coli* entéro-hémorragiques, *Salmonella*, *Shigella*	*E. coli* entéro-invasifs *Y. enterocolitica*	*Clostridium perfringens* (entérite nécrosante), *Entamoeba histolytica*

Appendice 5 Infections gastro-intestinales.

Infections urinaires et génitales	
Arbre urinaire	
Urétrite	*Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae*, HHV-2
Cystite	*Escherichia coli* (>90 %), *Staphylococcus saprophyticus*, (plus rarement *Proteus, Klebsiella, Enterococcus*, HHV-2, trigonite)
Pyélonéphrite aiguë	*E. coli* (>90 %), (rarement *Proteus, Klebsiella*)
Infections urinaires compliquées (anomalies congénitales, chirurgie, lithiase, sondage)	*E. coli* (30 %), *Proteus, Klebsiella, Pseudomonas, Enterococcus, Candida albicans*
Appareil génital	
Vulvo-vaginite (écoulement)	*Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis*, HHV-2, *Candida albicans, Trichomonas vaginalis, Enterobius vermicularis*
Vaginose bactérienne	*Gardnerella vaginalis* ? *Mobiluncus* ? Anaérobies ?
Ulcérations	HHV-2, HHV-1, *Treponema pallidum, Haemophilus ducreyi, C. trachomatis* (LGV), *Calymmatobacterium granulomatis*
Nodules	Papillomavirus humains, virus du molluscum contagiosum
Ectoparasitoses	*Phthirius pubis, Sarcoptes scabiei*
Épididymite	*C. trachomatis, N. gonorrhoeae, Mycobacterium tuberculosis*
Orchite et ovarite	Oreillons
Salpingite	*C. trachomatis, N. gonorrhoeae*, anaérobies *Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum M. tuberculosis, Actinomyces israelii*
Carcinome du col	Papillomavirus humains 16, 18, 33

Appendice 6 Infections génito-urinaires.

Infections de la peau et des tissus mous	
Œil	
Blépharites	HHV-1, HPV, virus du molluscum contagiosum, *S. aureus*, *Moraxella lacunata*
Conjonctivites	Adénovirus (3, 7, 8, 19), Entérovirus (70), Coxsackie (A24), HHV-1 *Haemophilus influenzae*, *H. aegyptius*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* (A-C : trachome), *C. trachomatis* (D-K : conjonctivite néonatale)
Kératites	HHV-1, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas*, *Fusarium solani*, *Candida albicans*, *Acanthamoeba*
Rétinites	*Toxocara canis*, HHV-5 et *Toxoplasma gondii*
Endophtalmites	*H. influenzae* (b), *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Trichinella spiralis*, *Taenia solium*
Peau	
Furoncles	*S. aureus*
Vésicules	HHV-1, HHV-2, HHV-3, Entérovirus
Impétigo	*S. aureus*, *S. pyogenes*
Nodules	Virus du molluscum contagiosum, Papillomavirus humains, Cowpox, Orf
Granulomes	*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium marinum*
Herpès circiné	*Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*
Intertrigo	*Candida albicans*
Pityriasis versicolor	*Malassezia furfur*
Infections de morsures	
Humaines	Anaérobies, *Eikenella corrodens*, *S. aureus*, *S. pyogenes*
Animales	*Capnocytophaga canimorsus*, *Pasteurella multocida*, anaérobies
D'insectes	*S. aureus*, *S. pyogenes*
Tissus mous	
Érysipèle	*S. pyogenes* (groupe A; rarement C et B)
Cellulites aiguës	*S. pyogenes*, *H. influenzae* (b), *Vibrio vulnificus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus anthracis*, *Erysipelothrix rusiopathiae*, *Aeromonas hydrophila*
Fasciite nécrosante	*S. pyogenes* Infections mixtes synergiques (*S. aureus* et anaérobies)
Lymphadénites	*Brucella*, *M. avium/intracellulare*, *M. tuberculosis*, *Bartonella henselae* (maladies des griffes du chat), *S. pyogenes*, *Treponema pallidum*

Appendice 7 Infections de la peau et des tissus mous.

Infections ostéo-articulaires et musculaires	
Os	
Ostéomyélite aiguë	*Staphylococcus aureus* (95 %), *Haemophilus influenzae* (b), *Salmonella*, *Streptococcus agalactiae* (néonatale)
Ostéomylélite chronique	Anaérobies, *Brucella*, entérobactéries, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* (infections sur matériel étranger)
Articulations	
Arthrite septique	*S. aureus*, *H. influenzae* (b), *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, Entérobactéries (immunodéprimé) *Brucella*, Parvovirus, virus de la rubéole
Arthrite réactionnelle (réaction à une infection à distance)	*Campylobacter*, *Chlamydia trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*
Muscle	
Pyomyosite	*S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*
Gangrène gazeuse	*Clostridium perfringens*
Infection parasitaire	*Toxoplasma gondii*, Cysticercose Hydatidose, *Trichinella spiralis*, *Toxocara canis*, *T. cati*
Maladie de Bornholm	Entérovirus

Appendice 8 Infections musculaires et ostéo-articulaires.

Infections cardiovasculaires	
Endocardite infectieuse	Streptocoques α-hémolytiques non groupables, *Staphylococcus epidermidis, Cardiobacterium hominis, Coxiella burnetii, Haemophilus aphrophilus, Enterococcus, Candida albicans, Aspergillus, Staphylococcus aureus* (infection aiguë)
Valves artificielles	*S. epidermidis* en particulier
Toxicomanes IV	Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa, Candida,* en particulier
Péricardite	Coxsackie B *Haemophilus influenzae* (b), *Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, S. aureus, Neisseria meningitidis, Mycobacterium tuberculosis*
Myocardite	Coxsackie A et B; ECHO, virus des oreillons *N. meningitidis, S. aureus, S. pyogenes*

Appendice 9 Infections cardiovasculaires.

Fièvre d'origine inconnue*		
	Principales infections	Autres infections
Infections (jusqu'à 40% des cas)		
Localisées	Abcès abdominal Abcès sous-phrénique Abcès pelvien Méningite tuberculeuse	Abcès splénique, abcès dentaire, abcès cérébral, sinusite chronique, méningite chronique, ostéomyélite chronique, cholécystite, endocardite bactérienne, mastoïdite, pyélonéphrite, abcès pulmonaire, hépatite, LGV, psittacose, maladie de Lyme *(Borrelia burgdorferi)*
Disséminées	HHV-4 et 5 VIH Tuberculose miliaire Typhoïde Paludisme	Brucellose, fièvre récurrente *(Borrelia recurrentis)*, sodoku *(Spirillum minus)*, leptospirose, fièvre Q *(Coxiella burnetii)*, maladie des griffes du chat *(Bartonella henselae)*, erlichiose, rickettsioses, cryptococcose, histoplasmose, toxoplasmose toxocarose, trypanosomiases, fièvre de Katayama (bilharziose)
Néoplasies (environ 15 %)	Lymphomes, métastases hépatiques ou cérébrales, adénocarcinome rénal	Carcinome hépatique ou pancréatique, myxome de l'oreillette, neuroblastome
Auto-immunité (environ 15 %)	Maladie de Still, maladie de Horton	Polyarthrite rhumatoïde, lupus, syndrome de Felty, rhumatisme articulaire aigu, polyartérite noueuse
Autres (10 à 20 %)	Fièvre médicamenteuse, maladie de Kawasaki	Dysplasie anhidrotique ectodermique Diabète insipide Maladie de Fabry Dysautonomie familiale Fièvre familiale méditerranéenne Pancréatite Maladie périodique Embolie pulmonaire Maladie sérique Hyperthyroïdie Fièvre factice
Non diagnostiquées (10 à 20 %)		

* Petersdorf suggère comme définition, une température minimale de 38,8 °C pendant 3 semaines, avec au moins une semaine d'investigation intensive à l'hôpital. En pédiatrie, on raccourcit souvent à une semaine de fièvre.

Appendice 10 Fièvre d'origine inconnue.

Index

Note la numérotation fait référence aux pages et non aux illustrations

Imprime en octobre 1999
et Cassegrain imprimeurs (Niort) (n° 3884)
Flammarion et C[e] éditeurs (n° 10471)
Dépôt légal novembre 1999

Impnme en France

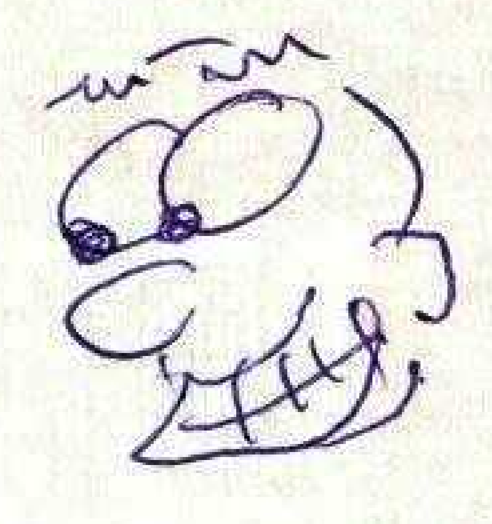
C'était un bon livre, qui s'est laissé scanner sans bouger.

Signé :

L'acheteur

Le voleur

(merci Flammarion)



Sponsorisé par

Le Comité des livres

Scannés 2002-2003